

ROZPRAWY HABILITACYJNE UNIwersYTETU JAGIELLOŃSKIEGO
COLLEGIUM MEDICUM
WYDZIAŁ LEKARSKI

JOLANTA PYTKO-POŁOŃCZYK

ANALIZA STANU KLINICZNEGO
I ZMIAN MIKROFLORY JAMY USTNEJ
W PRZEBIEGU RADIOTERAPII
CHORYCH NA RAKA
NARZĄDÓW GŁOWY I SZYI
JAKO PODSTAWA OPRACOWANIA
ALGORYTMU STOMATOLOGICZNEGO
LECZENIA WSPOMAGAJĄCEGO



WYDAWNICTWO UNIwersYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

ANALIZA STANU KLINICZNEGO
I ZMIAN MIKROFLORY JAMY USTNEJ
W PRZEBIEGU RADIOTERAPII
CHORYCH NA RAKA
NARZĄDÓW GŁOWY I SZYI
JAKO PODSTAWA OPRACOWANIA
ALGORYTMU STOMATOLOGICZNEGO
LECZENIA WSPOMAGAJĄCEGO

Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
Wydział Lekarski
Zakład Propedeutyki Stomatologicznej i Stomatologii Zintegrowanej

Kierownik: Dr hab. n. med. Bartłomiej W. Loster

ROZPRAWY HABILITACYJNE UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO
COLLEGIUM MEDICUM
WYDZIAŁ LEKARSKI

JOLANTA PYTKO-POLOŃCZYK

ANALIZA STANU KLINICZNEGO
I ZMIAN MIKROFLORY JAMY USTNEJ
W PRZEBIEGU RADIOTERAPII
CHORYCH NA RAKA
NARZĄDÓW GŁOWY I SZYI
JAKO PODSTAWA OPRACOWANIA
ALGORYTMU STOMATOLOGICZNEGO
LECZENIA WSPOMAGAJĄCEGO



WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

RECENZENT WYDAWNICZY

Prof. dr hab. med. Jan Skołyśzewski

Centrum Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie w Krakowie

PROJEKT OKŁADKI

Dorota Heliasz

REDAKTOR

Dorota Węgierska

ADIUSTACJA

Katarzyna Jagieła

KOREKTOR

Grzegorz Korczyński

SKŁAD I ŁAMANIE

Katarzyna Kerschner

© Copyright by Jolanta Pytko-Polończyk & Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego

Wydanie I, Kraków 2009

All rights reserved

ISBN 978-83-233-2766-0

www.wuj.pl

Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego

Redakcja: ul. Michałowskiego 9/2, 31-126 Kraków

tel. 012-631-18-81, tel./fax 012-631-18-83

Dystrybucja: ul. Wrocławska 53, 30-011 Kraków

tel. 012-631-01-97, tel./fax 012-631-01-98

tel. kom. 0506-006-674, e-mail: sprzedaz@wuj.pl

Konto: PEKAO SA, nr 80 1240 4722 1111 0000 4856 3325

*Pamięci Tych, którzy przegrali walkę z rakiem.
Z nadzieją, że ta praca pomoże Innym...*

PODZIĘKOWANIA

Pisanie pracy stało się dla mnie wyzwaniem, które by się nie powiodło bez wsparcia wielu życzliwych mi osób ze środowiska medycznego, pacjentów oraz bliskich.

Dlatego bardzo serdecznie dziękuję za ogrom dobrej woli i cierpliwości, wyrozumiałość, koleżeńską życzliwość oraz cenne wskazówki w trakcie realizacji pracy Panu Docentowi Bartłomiejowi W. Losterowi.

Chciałabym okazać wdzięczność Panu Profesorowi Bogdanowi Glińskiemu oraz Paniom Profesor: Annie B. Macurze i Zofii Knychalskiej-Karwan, za okazywaną na każdym kroku pomoc w czasie prowadzenia badań, a także za rady, które miały niezwykle istotny wpływ na kształt tej pracy.

Za współpracę w opracowaniach statystycznych i graficznych bardzo dziękuję Panu Magistrowi Pawłowi Krzyściakowi, za pomoc w pracy laboratoryjnej Paniom: Mgr Urszuli Pradel, Mgr Jolancie Szlachcic, Mgr Sylwii Oczkoś i Pani Elżbiecie Niedźwiedzkiej, a Panu Doktorowi Piotrowi Pierzchalskiemu za wykonanie badań genetycznych.

Dziękuję również Mojej Rodzinie i Bliskim za wsparcie okazane mi w końcowych etapach pisania i badań.

Do podjęcia tematu opieki stomatologicznej nad grupą chorych onkologicznie w ogromnej mierze zainspirowały mnie rozmowy z nieżyjącym już Panem Doktorem Zbigniewem Żakiem, przeprowadzane także w czasie Jego choroby. Jego trafne uwagi i życzliwe słowo pozostaną na zawsze w mojej pamięci.

Na koniec chciałabym podziękować wszystkim pacjentom, których spotkałam na swojej drodze – to ich determinacja w walce z chorobą motywowała mnie najbardziej.

SPIS TREŚCI

ROZDZIAŁ 1. WPROWADZENIE	11
ROZDZIAŁ 2. CEL PRACY	15
ROZDZIAŁ 3. MATERIAŁ I METODY BADAŃ	17
3.1. Materiał i metody badań klinicznych	17
3.2. Materiał i metody badań laboratoryjnych	24
3.2.1. Badania bakteriologiczne	25
3.2.2. Badanie mikologiczne	25
3.2.3. Przygotowanie preparatów i dokumentacja (mikologiczna) w mikroskopie skaningowym	27
3.2.4. Badania genetyczne	27
3.2.5. Metody wspomagającego leczenia stomatologicznego	28
3.3. Analiza statystyczna	30
ROZDZIAŁ 4. WYNIKI BADAŃ	31
4.1. Stan kliniczny błony śluzowej jamy ustnej i przyzębia	31
4.1.1. Stan kliniczny błony śluzowej jamy ustnej	31
4.1.2. Stan kliniczny przyzębia	34
4.2. Wyniki badań mikrobiologicznych	37
4.2.1. Wyniki badań bakteriologicznych	37
4.2.2. Wyniki badań mikologicznych	39
4.3. Obrazy kolonii grzybów w mikroskopie skaningowym	46
4.4. Wyniki badań genetycznych	48
4.5. Wybrane przypadki kliniczne – opis szczegółowy	50
ROZDZIAŁ 5. DYSKUSJA	69
ROZDZIAŁ 6. ALGORYTM STOMATOLOGICZNEGO LECZENIA WSPOMAGAJĄCEGO	77
ROZDZIAŁ 7. WNIOSKI	81
STRESZCZENIE	83
SUMMARY	91
PIŚMIENNICTWO	99

ROZDZIAŁ 1. WPROWADZENIE

Urbanizacja, wydłużenie życia i określony jego styl (obyczaje i nałogi) powodują ciągły wzrost liczby pacjentów ze schorzeniami onkologicznymi. Co roku na całym świecie nowotwory złośliwe rozpoznaje się u 11 mln osób, a prawie 7 mln z tego powodu umiera (dane epidemiologiczne wg WHO, UE, NCI z 2005 roku). W Polsce nowe zachorowania oceniane są na około 120 000 rocznie, a zgony na około 85 000 rocznie. Codziennie o chorobie nowotworowej dowiaduje się 300 Polaków, codziennie – 220 pacjentów umiera. Obie te liczby nieustannie rosną. Od wielu lat nowotwory złośliwe stanowią w naszym kraju drugą przyczynę zgonów, po zgonach spowodowanych chorobami układu krążenia. Według European Society for Medical Oncology nowotwory złośliwe jamy ustnej i gardła są w krajach rozwiniętych na ósmym miejscu w kolejności najczęściej występujących nowotworów (wg liczby zachorowań), w krajach rozwijających się – na miejscu trzecim. To samo źródło podaje dane dla Polski, które mówią, iż na ten rodzaj nowotworów zapada co roku 6% chorych onkologicznych, a 5 lat przeżywa 23,3% mężczyzn i około 40% kobiet [4].

23 września 2008 roku Światowa Federacja Dentystyczna (FDI) wydała oświadczenie, w którym problem *oral cancer* uważany jest za główny globalny cel zdrowotny [48]. Pod pojęciem *oral cancer* sprecyzowano nowotwory warg, jamy ustnej, nosowej i ustnej części gardła i krtani, podając, iż stanowią one 2–3% zachorowań na nowotwory złośliwe na świecie. W 2002 roku z tego powodu zmarło 318 000 chorych. Oświadczenie to podaje również główne czynniki ryzyka, do których zalicza się palenie tytoniu, spożywanie alkoholu, dietę ubogą w warzywa i owoce, infekcje spowodowane wirusem HPV oraz uszkodzenia błony śluzowej określone jako stadium przednowotworowe. FDI wytyczyła cele, które mają podnieść świadomość pacjentów, zachęcić do zminimalizowania narażenia na czynniki karcinogenne oraz wspomóc ich poprzez programy psychosocjalne. W świetle tych postanowień pacjent onkologiczny powinien być pacjentem wymagającym szczególnej troski i uwagi.

Radioterapia, obok leczenia chirurgicznego, należy do klasycznych metod terapii nowotworów złośliwych głowy i szyi, a według szacunkowych danych stosowana jest w różnej formie u około 50% chorych. Najczęściej znajduje zastosowanie w skojarzeniu z leczeniem operacyjnym, także jako metoda leczenia samodzielnego, a obecnie coraz częściej łączona jest z chemioterapią (zwłaszcza u chorych na zaawansowanego raka). Radioterapia odgrywa istotną rolę w kompleksowym leczeniu chorych na nowotwory tego regionu, ponieważ jej skuteczność jest porównywalna z leczeniem operacyjnym, a ponadto metoda ta pozwala na zachowanie narządu dotkniętego procesem nowotwo-

rowym, zapobiegając trwałemu okaleczeniu pacjenta. Podstawowe znaczenie w radioterapii ma letalne działanie promieniowania jonizującego. Promieniowanie uszkadza DNA, co powoduje, że komórki giną po próbie reprodukcji przy pierwszym lub następnym ich podziale [66, 70, 169]. Działanie promieniowania nie ogranicza się jednak tylko do samego guza nowotworowego, ale obejmuje też otaczające go tkanki zdrowe, wywołując różne reakcje i objawy kliniczne, będące przejawem odczynów popromiennych. Podczas radioterapii nowotworów regionu głowy i szyi na pierwszy plan wysuwają się przede wszystkim zmiany związane z ostrym uszkodzeniem popromiennym (zapaleniem) błony śluzowej (*oral mucositis*) [25, 112, 144]. Ostre popromienne zapalenie błony śluzowej jamy ustnej opisywane jest jako ciąg histopatologicznych reakcji związanych z czasem trwania napromieniowania i dawką otrzymywaną przez pacjenta [8, 66, 111, 149]. Czynnikiem mającym wpływ na rozwój i nasilenie *oral mucositis* jest rodzaj zastosowanego promieniowania, sposób frakcjonowania dawki oraz dawka kumulacyjna. Ostre popromienne zapalenie błony śluzowej występuje u wszystkich chorych na nowotwory tej lokalizacji, napromienianych w sposób konwencjonalny, tj. dawką 60–70 Gy podaną w 30–35 frakcjach w czasie 6–7 tygodni. Kliniczne objawy zapalenia błony śluzowej – zmiana zabarwienia, obrzęk, rumień, powstanie błon rzekomych i owrzodzeń – są wynikiem uszkodzenia tkanek, związanego z uwolnieniem wolnych rodników i toksycznych enzymów wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych oraz zmianą przepuszczalności błon komórkowych [72, 155, 170]. Dochodzi do rozwoju wtórnych infekcji (głównie grzybiczych), czemu często towarzyszy ból, który może uniemożliwić przyjmowanie pokarmów i płynów. Niektórzy chorzy wymagają wówczas podawania nawet narkotycznych leków przeciwbólowych. Najbardziej nasilone zmiany występują w obszarach błony śluzowej ruchomej, nierogowaciejącej – na policzkach, podniebieniu miękkim, w części śluzowej warg oraz w dnie jamy ustnej [31, 47, 127, 128, 145, 151–154].

Jama ustna będąca początkowym odcinkiem przewodu pokarmowego jest specyficznym, dynamicznym ekosystemem [1, 101, 103, 140]. Ontocenoza w tym środowisku jest utrzymywana w równowadze przez wzajemne oddziaływanie między ustrojem a zasiedlającymi stale jamę ustną mikroorganizmami. Homeostaza ta przyczynia się do utrzymania pełnego zdrowia i przeciwdziała rozwojowi gatunków zewnątrzpochodnych. Można tu wyróżnić mikroflorę stałą i przejściową, a ich skład zależy od licznych czynników pochodzenia endo- i egzogenego [124, 159]. Uważa się, że stała mikroflora jest cechą indywidualną i zależy od wrodzonych i nabytych czynników kontrolujących środowisko jamy ustnej. Na stan mikroflory przejściowej mają wpływ między innymi wiek i topografia jamy ustnej, w tym stan uzębienia – określane jako czynniki obiektywne, oraz sposób odżywiania, oddychania, palenie tytoniu, zażywanie leki, sprawność układu immunologicznego i stan higieny jamy ustnej – określane jako czynniki subiektywne [80, 101, 141]. W skład stałej mikroflory jamy ustnej mogą wchodzić różne drobnoustroje – bakterie, wirusy, grzyby, pierwotniaki. Najistotniejszą rolę w fizjologii lub patologii jamy ustnej odgrywają głównie bakterie rodzaju *Streptococcus* (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*). Inne – to pałeczki Gram (+) (*Actinomyces*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium spp.*), krętki (*Treponema*), ziarniaki Gram (–) (*Neisseria*, *Veilonella*), pałeczki Gram (–) (*Haemophilus*, *Eikenella*, *Actinobacillus*, *Prevotella* oraz *Mycoplasma*) [7, 9, 16, 38, 59, 63, 76, 78, 110, 123, 137, 174]. W ostatnich latach zwraca się również uwagę na mikroaerofilną spiralną bakterię

Gram (–) – *Helicobacter pylori*, która w jamie ustnej może kolonizować kieszenie dziąsłowe [100, 133], a jej obecność w żołądku doprowadza do zapalenia błony śluzowej, w konsekwencji do powstania wrzodu trawiennego, szczególnie dwunastnicy. Utrwalona przez lata infekcja może spowodować zanik błony śluzowej, co stanowi poważne ryzyko rozwoju raka żołądka [61, 81, 82, 109]. Istotne znaczenie w patologii jamy ustnej mogą mieć również odkryte w sierpniu 2008 roku trzy niezidentyfikowane warianty bakterii *Prevotella*, które nazwano *Prevotella histicola*. Bakterie te zostały wyizolowane ze zdrowych, ale również ze zmienionych nowotworowo tkanek jamy ustnej [40]. Grzyby, które najczęściej bytują w jamie ustnej, należą do rodzaju *Candida*. W zdecydowanej większości jest to *Candida albicans*, a następnie *C. glabrata* i *C. tropicalis*. Pozostałe gatunki występują rzadziej, należą do nich: *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr* [154, 174]. Liczba drobnoustrojów zmienia się w różnych stanach fizjologicznych organizmu oraz podczas procesów patologicznych toczących się w obrębie jamy ustnej [78]. Ta różnorodność ontocenozy spowodowana jest tym, że jama ustna nie jest jednorodnym środowiskiem, lecz składa się z wielu obszarów o specyficznych właściwościach morfologicznych, fizycznych i biologicznych, jak wargi, policzki, podniebienie, język, dziąsła, szczeliny i kieszenie dziąsłowe oraz zęby. Występują więc tu różne warunki do zasiedlania i rozwoju drobnoustrojów [30, 37, 51, 58, 107, 108, 124, 160, 165].

Naruszenie harmonijnego współdziałania mikroflory jamy ustnej z organizmem powoduje powstanie stanu chorobowego, którego najczęstszym wyrazem jest proces próchnicowy zębów z jego powikłaniami oraz choroby przyzębia i błony śluzowej jamy ustnej.

W trakcie radioterapii uszkodzenia błony śluzowej jamy ustnej mogą być powodowane przez wzrost grzybów, najczęściej z rodzaju *Candida* [22, 33, 49, 129, 130, 135, 138, 139]. Czynniki miejscowymi predysponującymi do wystąpienia grzybicy są przede wszystkim: zła higiena jamy ustnej, zmniejszone wydzielanie śliny, użytkowanie rozległych protez zębowych oraz długotrwałe stany zapalne błony śluzowej. Kandydoza jamy ustnej występująca w przebiegu radioterapii ma najczęściej charakter ostry. Grzyby mogą kolonizować również inne odcinki przewodu pokarmowego, powodując zapalenie przełyku i jelit, a także prowadzić do uogólnionej infekcji [60, 117]. Zakażenie grzybicze może również dołączać się do zakażenia gronkowcowo-paciorkowcowego, umiejscawiającego się w kątach ust, czego wynikiem jest zapalenie kątowe warg (*cheilitis angularis*) [10, 44, 77, 164, 172].

Jednym z najpoważniejszych skutków ubocznych radioterapii jest kserostomia, która może trwać nawet wiele lat [2, 6, 26, 28, 50, 54, 62, 66, 75, 97, 105, 112, 113, 119, 147, 148, 156]. Dochodzi do niej w wyniku działania promieniowania jonizującego (dawka promieniowania przekracza często 60 Gy) na ślinianki, które ulegają nieodwracalnym zmianom. Z biegiem czasu następuje ich zwłóknienie i zanik. Pacjenci z kserostomią produkują mało śliny lub nie wytwarzają jej wcale. W jamie ustnej pojawia się ból, wzrasta podatność na próchnicę, występują trudności w mowie, żuciu i połykaniu, a także trudności w użytkowaniu ruchomych uzupełnień protetycznych [143]. Prowadzi to do zaburzeń odżywiania i znacznego pogorszenia jakości życia pacjentów [98, 106]. Próchnica popromienna ma zazwyczaj ostry przebieg. Związana jest głównie ze zmniejszeniem wydzielania śliny, a także z działaniem promieniowania jonizującego na tkanki zęba. W opublikowanym w 2003 roku doniesieniu Tong i współpracownicy podają [161], iż u pacjentów z nowotworami w obrębie głowy i szyi po zakończeniu

radioterapii znacznie wzrasta ilość pałeczek Gram (+) (*Lactobacillus*), a także *Streptococcus mitis*, spada zaś poziom *Streptococcus sanguis*. Przed rozpoczęciem napromieniania bytujące w jamie ustnej szczepy *Streptococcus* i *Lactobacillus* występują na podobnym poziomie jak u ludzi zdrowych [161]. Lacatusu i współpracownicy [96] stwierdzili, iż u 89% chorych napromieniowanych występuje wzmożona skłonność do próchnicy, pod postacią tzw. próchnicy radiacyjnej [69, 74]. Demineralizacja rozpoczyna się w okolicy szyjki zęba, drąży w głąb, często doprowadzając do odłamania korony klinicznej zęba [96, 143].

Niektórzy autorzy podają, że w 4–13% przypadków u chorych po radioterapii w kościach szczęki i żuchwy może wystąpić osteoradioneekroza. Głównymi czynnikami ryzyka wystąpienia martwicy popromiennej kości jest miejsce lokalizacji procesu nowotworowego, dawka promieniowania, a także stan zdrowia jamy ustnej [170, 173]. Zaobserwowano, że osteoradioneekroza występuje częściej u pacjentów uzębionych, ze złym stanem higieny jamy ustnej i występującymi schorzeniami tkanek zębów, aniżeli u osób bezzębnych. Czynnikiem ryzyka wystąpienia martwicy kości w związku z radioterapią mogą być również źle zaplanowane, nieprawidłowo wykonane i działające drażniąco uzupełnienia protetyczne [116, 143, 167].

Radioterapia nie pozostaje również bez wpływu na zmiany w przyzębiu, które objawiają się przechodzeniem fizjologicznych szczelin w patologiczne kieszenie dziąsłowe, recesją dziąsła, a także stanem zapalnym z towarzyszącym krwawieniem z brodawek przyzębnych [157].

Pomimo znacznego postępu, jaki dokonał się w radioterapii w ostatnich latach, objawy uboczne związane z tym leczeniem nadal stanowią istotny problem terapeutyczny z uwagi na wielokierunkowość powikłań. Badania w tym zakresie prowadzone są nie tylko przez lekarzy onkologów, specjalistów radioterapii onkologicznej, ale również genetyków, mikrobiologów, a w ostatnim czasie także lekarzy stomatologów. Dotychczas jednak nie został ustalony schemat profilaktyki i algorytm postępowania stomatologicznego u pacjentów onkologicznych w trakcie trwania i po zastosowaniu radioterapii.

ROZDZIAŁ 2. CEL PRACY

Celem badań, realizowanych w ramach tej pracy, było uzyskanie udokumentowanej wiedzy dotyczącej stanu klinicznego i zmian mikroflory jamy ustnej pod wpływem radioterapii, stosowanej u chorych na raka narządów głowy i szyi, i na tej podstawie opracowanie wytycznych dla zastosowania miejscowego leczenia stomatologicznego – jako zalecanej procedury wspomagającej w postępowaniu onkologicznym.

Przyjęto założenie, że tak sformułowany cel ogólny pracy wymaga zrealizowania badań klinicznych i laboratoryjnych w zakresie umożliwiającym odpowiedź na następujące pytania szczegółowe:

1. Jak pod wpływem radioterapii zmienia się stan kliniczny jamy ustnej chorych w stosunku do stanu wyjściowego, tzn. jakie są skutki uboczne napromieniowania nowotworu w odniesieniu do tkanek i okolicznych narządów jamy ustnej?
2. Czy i w jakim zakresie objawom klinicznym towarzyszą zmiany ilościowe i jakościowe mikroflory jamy ustnej oraz jaka jest wrażliwość szczepów patogennych na antybiotyki i chemioterapeutyki?
3. Czy uzyskane wyniki postępowania stomatologicznego upoważniają do przyjęcia zaproponowanego algorytmu w kompleksowym leczeniu tej grupy pacjentów?

ROZDZIAŁ 3. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

W metodyce badawczej uwzględniono część kliniczną oraz część laboratoryjną, w tym badania mikrobiologiczne (bakteriologiczne i mikologiczne) oraz badanie genetyczne przy użyciu techniki PCR-fingerprinting. Cykl tych badań obejmował:

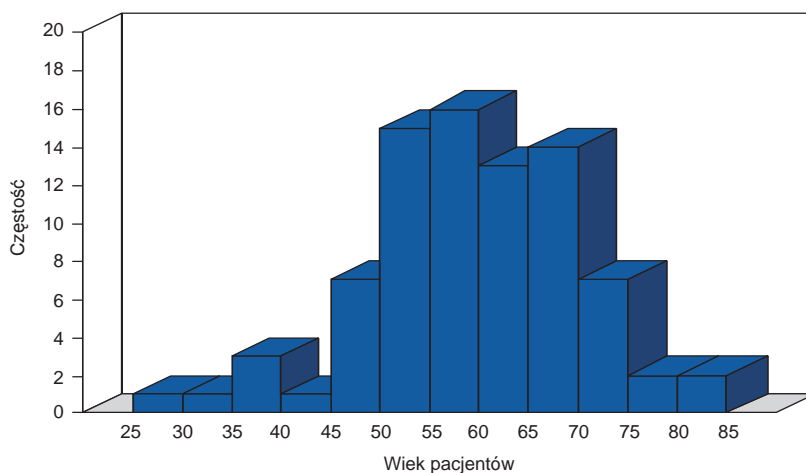
1. Ocenę kliniczną stanu przyzębia i błony śluzowej jamy ustnej u pacjentów chorych na raka narządów głowy i szyi (przed napromieniowaniem, w trakcie radioterapii – w 2. i w 4. tygodniu leczenia, a także 4–6 tygodni po zakończeniu leczenia);
2. Szczegółową charakterystykę drobnoustrojów wyizolowanych z ekosystemu jamy ustnej (badania jakościowe), określenie właściwości enzymatycznych oraz genotypu wybranych szczepów i stwierdzenie ich roli w patogenności;
3. Określenie częstości występowania infekcji grzybiczej, identyfikację izolowanych grzybów oraz ocenę ilościową obfitości ich wzrostu (badania ilościowe);
4. Określenie wrażliwości patogennych szczepów na chemioterapeutyki i antybiotyki;
5. Ustalenie schematu leczenia miejscowego (w zależności od stanu klinicznego i stanu mikroflory jamy ustnej) i wdrożenie tego leczenia u pacjentów, zarówno w trakcie, jak i po zakończeniu radioterapii.

Badania kliniczne przeprowadzono w Instytucie Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie w Krakowie. Badania mikologiczne wykonano w Zakładzie Mykologii Katedry Mikrobiologii UJ CM. Badania bakteriologiczne wykonano w Pracowni Bakteriologii Zakładu Diagnostyki Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie, a badania genetyczne – w Pracowni Biologii Molekularnej Zakładu Fizjologii Klinicznej UJ CM.

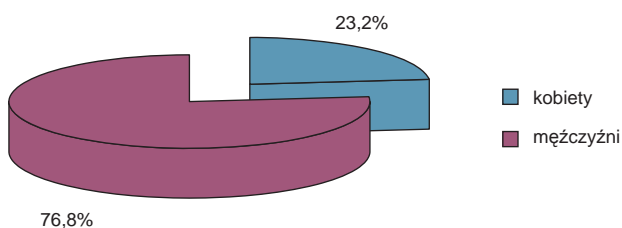
3.1. Materiał i metody badań klinicznych

Do badań klinicznych, realizowanych w ramach projektu badawczego, włączono 82 pacjentów w wieku od 27 do 81 lat (średnia wieku $58,6 \pm 10,7$) (ryc. 1), w tym 63 mężczyzn (76,8%) w wieku 27–81 lat i 19 kobiet (23,2%) w wieku 35–76 lat (ryc. 2), leczonych z powodu raka narządów głowy i szyi, zakwalifikowanych do napromieniowania pierwotnego lub pooperacyjnego w Instytucie Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie w Krakowie w latach 2005–2007. Najczęściej występującym nowotworem był

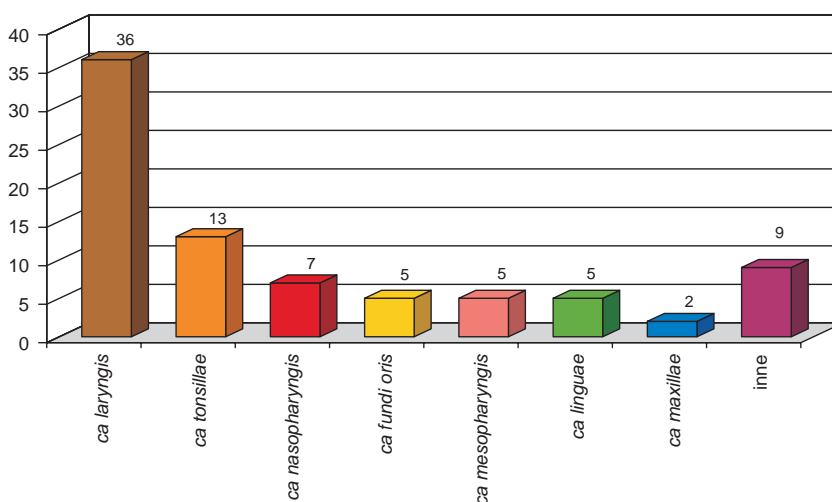
rak krtani (*ca laryngis*), który rozpoznano u 43,9% chorych (36 pacjentów), rak migdałka (*ca tonsillae*) – u 15,85% (13 pacjentów) i rak nosowej części gardła (*ca nasopharyngis*) – u 7 chorych (ryc. 3).



Ryc. 1. Struktura wieku pacjentów



Ryc. 2. Podział pacjentów ze względu na płeć n = 82



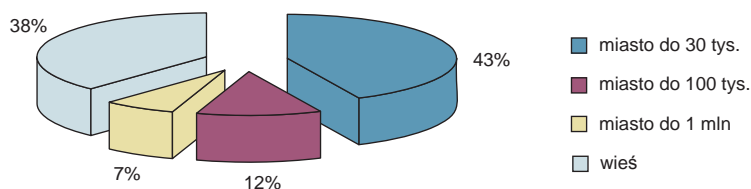
Ryc. 3. Rodzaje i częstość występowania nowotworów wśród badanych pacjentów

Z ogólnej grupy 82 badanych, poddanych radioterapii, 31 pacjentów (37,8%) pochodziło ze wsi, 35 (42,7%) – to w większości mieszkańcy małych miasteczek, których liczba obywateli nie przekracza 30 tys., 7,3% chorych (6 osób) mieszka w dużym mieście (tabela I i ryc. 4).

Tabela I

Struktura pacjentów według miejsca zamieszkania

Miejsce zamieszkania	Liczba pacjentów	Procent
Wieś	31	37,8
Miasto do 30 tys.	35	42,7
Miasto 31–100 tys.	10	12,2
Miasto ponad 500 tys.	6	7,3



Ryc. 4. Podział pacjentów ze względu na pochodzenie n = 82

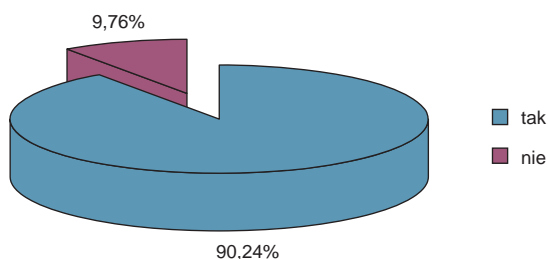
Wśród 82 przebadanych osób 90,2% (74 chorych) – to nałogowi palacze tytoniu (z czego 23 osoby palą ponad 20 papierosów dziennie przez okres ponad 30–40 lat), 9,8% to osoby niepalące (8 chorych) (tabela II i ryc. 5).

27 osób nadużywało alkoholu (32,9% badanych). Kontakt z substancjami szkodliwymi w miejscu pracy (farby, kleje, lakiery itp.) miało 31 pacjentów (37,8%) (tabela III), duże i średnie narażenie na stres podało 50 osób (61% badanych) (ryc. 6).

Tabela II

Struktura pacjentów a nałóg palenia tytoniu

Czy pali?	Liczba pacjentów	Procent
Tak	64	78,05
Nie	8	9,76
Były palacz	10	12,19

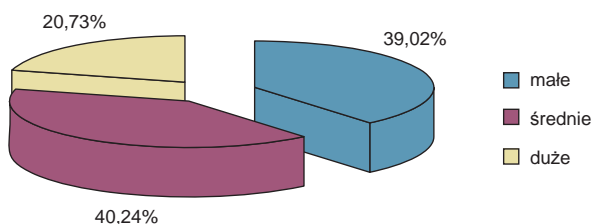


Ryc. 5. Podział pacjentów na osoby palące i niepalące n = 82

Tabela III

Narażenie na czynniki szkodliwe

Czynnik szkodliwy	Liczba pacjentów	Procent
Brak narażenia	51	62,20
Farby	10	12,20
Paliwa	3	3,64
Lakiery	6	7,32
Chlor	1	1,22
Nawozy	1	1,22
Substancje chemiczne	1	1,22
Rtęć	1	1,22
Kleje	6	7,32
Spaliny	2	2,44



Ryc. 6. Podział pacjentów ze względu na narażenie na stres n = 82

U 47 chorych (57,31%) objętych badaniem przeprowadzono wcześniej leczenie chirurgiczne, 17 pacjentów (20,73%) zakwalifikowano do chemioradioterapii, u 18 osób (21,96%) – leczenie promieniami jonizującymi było leczeniem pierwotnym (tabela IV).

Tabela IV

Rodzaj terapii prowadzonej u badanych pacjentów

Rodzaj terapii	Liczba pacjentów	Procent
Operacja + radioterapia	37	45,12
Chemioradioterapia	17	20,73
Operacja + chemioradioterapia	10	12,19
Radioterapia	18	21,96

U pacjentów tych przeprowadzano stomatologiczne badanie podmiotowe i przedmiotowe, na podstawie specjalnie opracowanej na potrzeby tej pracy karty dokumentacyjnej, w której uwzględniono dane z wywiadu ogólnego z podaniem rozpoznania onkologicznego, dane z wywiadu stomatologicznego, kliniczną ocenę stanu jamy ustnej, stosowane leczenie onkologiczne, wyniki badań laboratoryjnych oraz zastosowane leczenie stomatologiczne. Karta badania zawierała również informację na temat przeprowadzanych badań wraz ze zgodą pacjenta na stosowane leczenie.

Badanie kliniczne realizowano według następującego cyklu:

- przed radioterapią (ocena stanu wyjściowego);
- w drugim tygodniu radioterapii (ocena skutków radioterapii w odniesieniu do stanu jamy ustnej);
- wdrożenie procedury leczenia stomatologicznego;
- w czwartym tygodniu trwania radioterapii i drugim leczenia stomatologicznego (ocena efektów wspomagającego leczenia stomatologicznego);
- kontynuacja leczenia stomatologicznego;
- badanie końcowe, tj. po ukończeniu leczenia napromieniowaniem i zakończeniu wspomagającego leczenia stomatologicznego.

Wywiad ogólny obejmował zebranie danych osobowych chorego (wiek, rodzaj wykonywanej pracy, miejsce zamieszkania) oraz danych dotyczących czynników ryzyka, takich jak używki (palenie papierosów, picie alkoholu, kawy) i narażenie na stres, a także dłuższy kontakt z substancjami szkodliwymi (opary benzyny, farb i lakierów). Badanie podmiotowe obejmowało również współistniejące schorzenia ogólne i przyjmowane leki.

W części onkologicznej karty odnotowano rozpoznanie kliniczne i histopatologiczne nowotworu wraz ze stopniem jego zaawansowania (wg Klasyfikacji TNM przyjętej przez Międzynarodową Unię do Walki z Rakiem) oraz stosowane leczenie radiologiczne z uwzględnieniem wysokości dawki całkowitej promieniowania (w grejach [Gy]) i liczby frakcji.

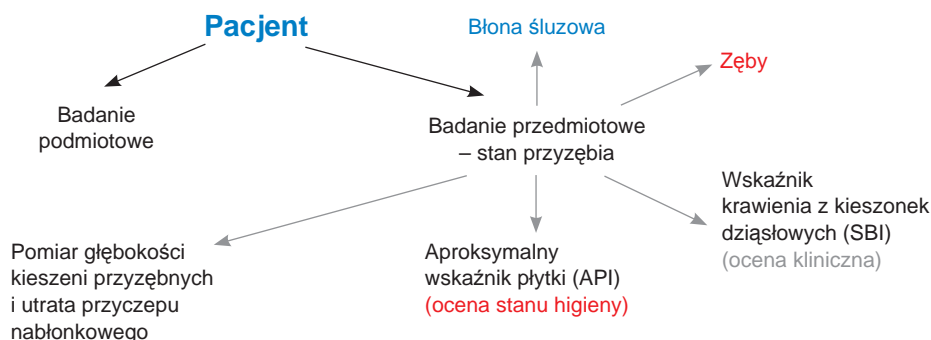
Wywiad stomatologiczny obejmował ocenę dolegliwości ze strony błony śluzowej jamy ustnej, uwzględniając występowanie bólu samoistnego, wzmożonej wrażliwości na spożywane pokarmy, uczucia napięcia, pieczenia, mrowienia, zaburzenia czucia i smaku, istniejącego ślinotoku bądź suchości jamy ustnej. W wywiadzie uwzględniono również pytania dotyczące przyzębia – występowania samoistnego lub bodźcowego krwawienia, wysięku ropnego z kieszeni dziąsłowych, lokalizacji ropni przyzębnych i stopnia ruchomości zębów.

Badanie kliniczne zewnątrz- i wewnątrzustne przeprowadzano (ryc. 7) według ogólnie przyjętych kryteriów oceny [77]. W badaniu zewnątrzustnym oceniano symetrię twarzy, występowanie obrzęków, nieprawidłowe uwypuklenia tkanek, stany porażenne, zaburzenia w stawie skroniowo-żuchwowym i szczękoscisk. Badano wielkość i spoistość ślinianek oraz stan węzłów chłonnych. Badanie wewnątrzustne przeprowadzono zgodnie z następującą (zalecaną) kolejnością – wargi, policzki, dno jamy ustnej i okolica podjęzykowa, powierzchnia grzbietowa i dolna języka, boki języka, twarde i miękkie podniebienie, przestrzeń migdałkowa, tylna ściana gardła, przestrzeń pozatrzonowcowa, dziąsła, zęby. Stan błony śluzowej jamy ustnej oceniano na podstawie badania przedmiotowego (badanie wzrokiem i palpacyjne) [57, 77], z uwzględnieniem występowania zmian rumieniowych, nadżerek, owrzodzeń, obrzęku błony śluzowej, błądności błony śluzowej, wybroczyn, zmian rozrostowych, zanikowych oraz zmian mających cechy grzybiczego zapalenia jamy ustnej. Zaznaczano ich lokalizację, kształt wykwitów, wielkość i zasięg oraz rodzaj brzegów i dna, a także zabarwienia lub ewentualnie występującego nalotu. Nasilenie zmian oceniano, posilując się 5-stopniową skalą WHO [142]:

- 0 – stan błony śluzowej jamy ustnej bez objawów chorobowych;
- I – zaczerwienienie błony śluzowej, obrzęk, ból w jamie ustnej;
- II – zaczerwienienie błony śluzowej, obrzęk, powierzchowne nadżerki, pacjent może spożywać stałe pokarmy;
- III – zaczerwienienie błony śluzowej, obrzęk, obecność owrzodzeń, pacjent może przyjmować tylko pokarmy płynne;
- IV – zaczerwienienie błony śluzowej, obrzęk, owrzodzenia, pacjent jest odżywiany pozajelitowo.

Badaniem palpacyjnym oceniano ciepłotę tkanek, cechy podłoża, grubość, spoistość i napięcie tkanki, wilgotność lub nadmierną suchość, a także bolesność.

Stopień nawilżania błony śluzowej oceniano testem Mirror – MT [79].



Ryc. 7. Schemat stomatologicznej procedury diagnostycznej badanych pacjentów

Stan przyzębia oceniano wg następujących wskaźników klinicznych: wskaźnika krwawienia z kieszeni dziąsłowej (SBI), umożliwiającego ocenę kliniczną stanu przyzębia (podaną w procentach); aproksymalnego wskaźnika płytki (API) wg Lango

i współpracowników, umożliwiającego uproszczoną ocenę kliniczną stopnia higieny jamy ustnej (podaną w procentach) oraz pomiaru głębokości kieszeni przyzębnych.

SBI [17] oceniano wg podanych poniżej zakresów wartości wskaźnika:

- SBI 100–50% – ciężkie i uogólnione zapalenie przyzębia;
- SBI 50–20% – umiarkowane zapalenie dziąseł wymagające intensywnego leczenia;
- SBI 20–10% – łagodne zapalenie dziąseł, stan wymagający poprawy;
- SBI < 10% – przyzębie klinicznie zdrowe.

API [17] interpretowano w następujący sposób:

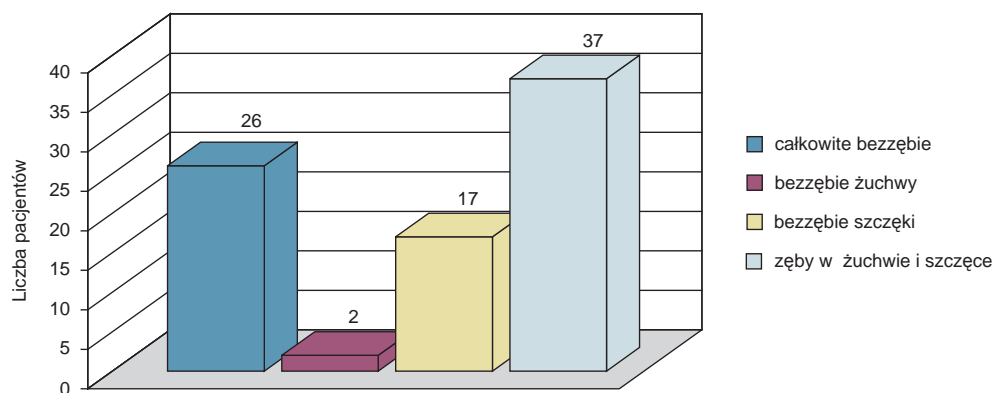
- API 100–70% – niedostateczna higiena jamy ustnej;
- API 70–40% – higiena dostateczna, ale wskazana poprawa;
- API 39–25% – higiena jamy ustnej dość dobra;
- API < 25% – optymalna higiena jamy ustnej.

Głębokość kieszeni dziąsłowych (mierzonych periodontometrem) określano wg II parametru wskaźnika przyzębia Köttschkego [79] wg schematu:

- 2 – głębokość 1–2 mm;
- 4 – głębokość 2–3 mm;
- 6 – głębokość ponad 3 mm.

Oceniano również stan uzębienia, tj. liczbę brakujących zębów i liczbę zębów w czynną próchnicą.

W badaniu przedmiotowym u 26 osób stwierdzono bezzębnie, brak zębów w szczęcie rozpoznano u 17 osób, a u 2 chorych stwierdzono bezzębnie w zakresie łuku dolnego. Żaden z pacjentów nie posiadał pełnego uzębienia. W większości przypadków chorzy mieli pojedyncze zęby w szczęcie lub żuchwie (ryc. 8).



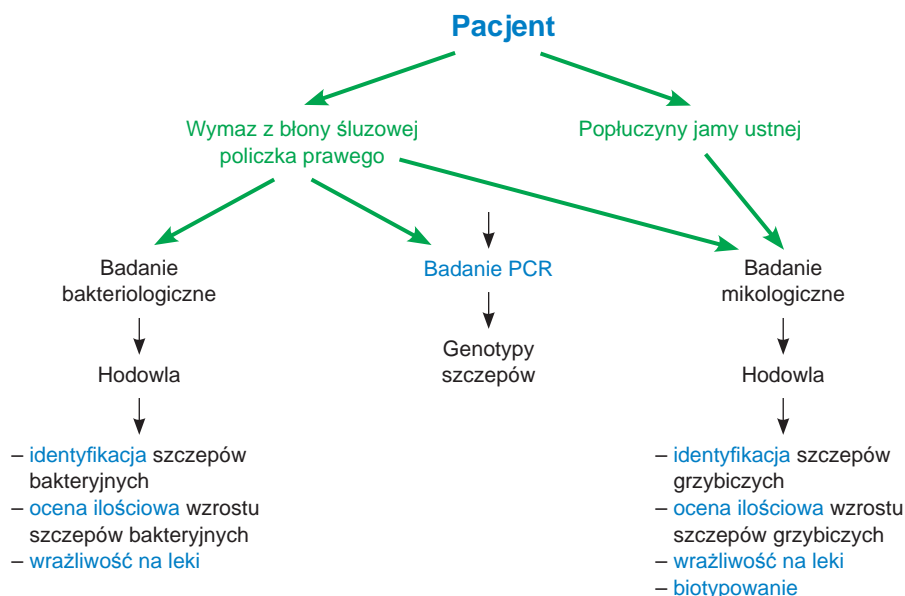
Ryc. 8. Stan uzębienia w badanej grupie pacjentów

3.2. Materiał i metody badań laboratoryjnych

Materiał do badań laboratoryjnych pobierano wg cyklu badań klinicznych, tj. przed zastosowaniem radioterapii, w 2. i w 4. tygodniu jej trwania oraz 4–6 tygodni po ukończeniu leczenia napromieniowaniem.

Od wszystkich badanych pobierano materiał biologiczny w postaci wymazów z błony śluzowej oraz popłuczyn jamy ustnej (ryc. 9). Wymaz z błony śluzowej jamy ustnej pobierano, używając sterylnej pałeczki plastikowej z wacikiem wiskozowym, którą przykładano do błony śluzowej w ustalonym miejscu i obracano o 360°. Popłuczyny z jamy ustnej uzyskiwano, polecając pacjentowi płukanie jamy ustnej 5 ml soli fizjologicznej przez 30 sekund. Materiał zbierano do plastikowego sterylnego pojemnika. Podczas pobierania materiału stosowano zasady ogólnie przyjęte w badaniach mikrobiologicznych dotyczące: czasu i sposobu pobierania materiału biologicznego, objętości i liczby próbek, transportu do pracowni mikrobiologicznej oraz zachowania środków ostrożności w pracy z materiałem potencjalnie zakaźnym [84–89].

Pobrany materiał biologiczny służył do przeprowadzenia badań mikrobiologicznych, które obejmowały: hodowlę, izolację i identyfikację poszczególnych szczepów bakteryjnych i grzybiczych według ogólnie przyjętych zasad w bakteriologii i mikologii. Dokonana została ocena ilościowa wzrostu szczepów mikroorganizmów wyizolowanych z materiału klinicznego. Szczegółową charakterystykę poszczególnych drobnoustrojów określano na podstawie oceny wrażliwości na leki oraz właściwości enzymatycznych.



Ryc. 9. Schemat pobierania materiału do badań laboratoryjnych

Do transportu pobranego materiału biologicznego posłużyło podłoże Stuart (firmy LabService, Włochy). Założono hodowlę drobnoustrojów tlenowych i beztlenowych.

Po izolacji materiału i identyfikacji poszczególnych drobnoustrojów zastosowano testy oporności (firmy bioMerieux) w celu badania wrażliwości na antybiotyki w zależności od wyizolowanego gatunku i leki przeciwwgrzybicze w zależności od wyizolowanego szczepu grzybów.

3.2.1. Badania bakteriologiczne

Z pobranego materiału biologicznego wykonano preparaty bezpośrednie barwione metodą Grama oraz przeprowadzono badanie mikroskopowe w celu oceny szczepu bakteryjnego [140].

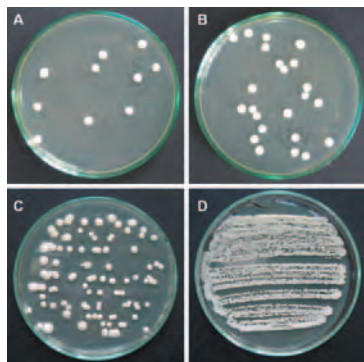
W celu identyfikacji bakterii materiał z jamy ustnej wysiewano bezpośrednio na stałe podłoża agarowe (firma bioMerieux): Columbia agar z 5% krwią baranią, agar czekoladowy, podłoże McConkey'a. Podłoża inkubowano w temperaturze 35°C z zachowaniem odpowiednich warunków – tlenowych oraz 5% CO₂. Identyfikację wyhodowanych szczepów bakterii oparto na określeniu ich właściwości biochemicznych na podstawie wyników testów komercyjnych ID 32E i ID 32GN (firmy bioMerieux) – odpowiednio dla pałeczek *Enterobacteriaceae* i pałeczek niefermentujących glukozy oraz testów API 20Strept (firmy bioMerieux), które stosowano do identyfikacji ziarenkowców [121].

Lekowrażliwość szczepów bakteryjnych oznaczano metodą dyfuzyjno-krażkową. Kategorię interpretacji określano zgodnie z zaleceniami CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Zdolność do produkcji β -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym (*extended-spectrum β -lactamases*, ESBL) oznaczano metodą dwóch krążków (*double disc test*, DDT). Stosowano rutynowo krążki z następującymi antybiotykami: amoksycylina/kwas klawulanowy (20 mg + 10 mg), ceftazydym (30 mg), cefotaksym (30 mg), cefepim (30 mg) oraz aztreonam (30 mg).

3.2.2. Badanie mikologiczne

W celu identyfikacji grzybów materiał biologiczny wysiewano na podłoże stałe Sabourauda z dodatkiem chloramfenikolu. Z wymazów jamy ustnej i popłuczyn wykonywano preparaty bezpośrednie barwione metodą Grama do oceny form morfologicznych grzybów stwierdzonych w materiale klinicznym. Oceniano ilość grzybów w 1 ml popłuczyn, obfitość grzybów określano półilościowo wg schematu:

- 0 – brak wzrostu grzybów;
- 1 – wzrost słabo obfity (+) – pojedyncze kolonie (1–10 kolonii);
- 2 – wzrost średnio obfity (++) – 11–30 kolonii;
- 3 – wzrost obfity (+++) – 30–100 kolonii;
- 4 – wzrost bardzo obfity, zlewny (+++++) – powyżej 100 kolonii (ryc. 10).



Ryc. 10. Poziomy wzrostu grzybów: A – wzrost słabo obfity (+), B – wzrost średnio obfity (++), C – wzrost obfity (+++), D – wzrost bardzo obfity, zlewny (++++)

Wszystkie wyizolowane szczepy identyfikowano zgodnie z metodyką stosowaną w rutynowej diagnostyce mikologicznej. Oceniano zdolność do wytwarzania grzybni i chlamydosporów oraz wykonywano test asymilacji związków węglowych API 20C AUX (firmy bioMerieux).

W celu oceny wrażliwości na leki przeciwgrzybicze, grzyby były wstępnie hodowane na podłożu Sabourauda przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Z tak przygotowanych świeżych kolonii wykonywano badanie lekooporności testem ATB Fungus 2 INT (firmy bioMerieux) [42, 162] do oznaczenia wrażliwości szczepów na 5-fluorocytozynę (5FC), amfoterycynę B (AMB), flukonazol (FCA), itraconazol (ITR). Z każdego przygotowanego szczepu tworzone 2 ml zawiesiny drobnoustrojów w soli fizjologicznej o gęstości wynoszącej 2 w skali McFarlanda (pomiar dokonywano za pomocą gęstościomierza DEN1 firmy Biosan) [166]. Następnie, według zaleceń producenta, z zawiesiny tej pobierano 20 µl i pipetowano je do firmowego podłoża ATB F2. Do każdej studzienki testu nakładano po 135 µl rozcieńczonej w ten sposób zawiesiny. Przygotowany pasek inkubowano 24 godziny w temperaturze 37°C. W szczególnych przypadkach inkubację przedłużano do 48 godzin (jeśli niemożliwe było prawidłowe odczytanie MIC). Odczytu dokonywano przez odnotowanie najniższego stężenia hamującego wzrost grzybów wg kryteriów podanych przez producenta (najczęściej brak wzrostu lub wzrost śladowy).

Oznaczenie profilu enzymów hydrolitycznych dokonywano za pomocą testu API ZYM (bioMerieux) [115]. Z 2 ml przygotowanej (ze świeżej 24-godzinnej hodowli) zawiesiny komórek danego szczepu *Candida*, o gęstości 5–6 w skali McFarlanda, pipetowano po 65 µl do każdego zagłębienia testu. Po nałożeniu zawiesiny testy umieszczone w komorze wilgotnej inkubowano przez 4 godziny w temperaturze 37°C. Po upływie tego czasu do każdego dołka dodawano odczynnik aktywny przestrzennie ZYM A, a następnie w celu wywołania reakcji barwnej odczynnik ZYM B. Test odczytywano, oceniając intensywność zabarwienia w 6-stopniowej skali 0–5.

Przebadano 86 szczepów grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych od 29 pacjentów. Określono intensywność wzrostu, wrażliwość na leki przeciwgrzybicze: 5FC, AMB, FCA, ITR przy użyciu testu ATB Fungus 2 INT (bioMerieux) oraz na NYS (metodą dyfuzyjno-krażkową) wszystkich szczepów. Ponadto zbadano aktywność hydrolityczną 19 enzymów konstytutywnych przy użyciu testu API ZYM (bioMerieux), którego przydatność potwierdziło wielu autorów [11–15, 18–20, 34–36, 86, 87, 90,

93–95, 102, 104, 131, 132, 135, 136]. Na podstawie profilu enzymatycznego określono dla *C. albicans* przynależność do biotypu wg Williamsona [168], Kurnatowskiej i Kurnatowskiego [93], Krajewskiej-Kułał [85].

3.2.3. Przygotowanie preparatów i dokumentacja (mikologiczna) w mikroskopie skaningowym

Wyhodowane kolonie grzybów przesyłano do Pracowni Mikroskopii Elektronowej, gdzie odpowiednio przygotowywano próbki – wykonywano rozmazy materiału na szkiełkach nakrywkowych lub utrwalano grzyby rosnące na agarze (powierzchnia wyciętych fragmentów agaru ok. 1 cm/1 cm). Następnie utrwalano je chemicznie 2,5% aldehydem glutarowym na buforze fosforanowym 0,1 M przez 5 min, jeden raz płukano buforem fosforanowym 0,1 M oraz dwukrotnie wodą destylowaną. Materiał zamrażano w ciekłym azocie i suszono poprzez sublimację lodem w temperaturze 30°C pod próżnią 10–2 Torr (liofilizacja) (Liofilizator: Edwards EDT4 firmy Edwards High Vacuum International, UK). Preparaty układano na metalowych walcach pokrytych samoprzylepną taśmą węglową (firmy Agar Scientific Limited, 66A Cambridge Road, Stansted, England) oraz napyłano na nie cienką warstwę przewodnika (złoto) w napyłarce próżniowej w celu odprowadzenia ładunku (z powierzchni preparatu w czasie obserwacji w SEM) (napyłarka firmy JEOL JFC-1100E, Japan).

Zdjęcia wykonywano w skaningowym mikroskopie elektronowym (JSM 5410, JEOL, Japan).

3.2.4. Badania genetyczne

Przy użyciu techniki PCR-fingerprinting (*Random Amplified Polymorphic DNA*, RAPD) oznaczano genotypy poszczególnych szczepów [122]. Analizie poddano zarówno szczepy bakterii, jak i grzybów w celu określenia podobieństw genetycznych i stratygrafii patologicznej flory bakteryjnej i grzybiczej w obrębie jamy ustnej u pacjentów poddanych leczeniu przeciwnowotworowemu. Technika RAPD jest oparta na łańcuchowej reakcji polimerazy DNA. Amplifikowane są krótkie, powtarzające się i przypadkowo rozmieszczone w genomie sekwencje nukleotydowe. Rozkład genomowy tychże sekwencji jest charakterystyczny i unikatowy dla danego szczepu w obrębie gatunku. Analiza elektroforetyczna ujawnia charakterystyczny wzór prążkowy odpowiadający amplifikowanym fragmentom. Jedynie pełna identyczność wzoru prążkowego ujawnia 100% podobieństwo szczepów pomiędzy próbkami. Technika ta umożliwia wytypowanie również podobieństw niestuprocentowych. Analizując ilość pokrywających się pomiędzy próbkami prążków, możemy oszacować niepełne podobieństwa analizowanych szczepów.

Primery SZ1 5'-GGT ATG AGC ACA AAG AGA AGT-3' i SZ2 5'-CTA GGG AAG GAG AGA GAG AAT-3' identyfikują szczepy *Candida albicans*.

Do izolacji DNA świeże hodowle grzybów zawieszano w 1,5 ml buforu SE (1,2 M sorbitol, 0,1 M EDTA pH 8,0) zawierającym b-merkaptioetanol (3 ml) i 0,5 mg litykazy. Zawiesinę inkubowano w temperaturze 37°C przez co najmniej 1 godzinę, aż do utworzenia sferoplastów. Próbkę wirowano przy 13 000 rpm przez 5 min. Peletkę przemywano dwukrotnie buforem SE i zawieszano następnie w 1,5 ml buforu K

(0,15 M NaCl, 0,1 M EDTA, proteinaza K 500 mg/ml, 1% SDS). Lizę przeprowadzano w temperaturze 55°C przez 1 godzinę. Po ponownym wirowaniu przy 13 000 rpm przez 5 min z nadsącza izolowano genomowe DNA (fenol/fenol-chloroform/chloroform-alk. izoamylowy) i wytrącano dwiema objętościami izopropanolu.

W celu ustalenia podobieństw poszczególnych szczepów prowadzono analizę RAPD, stosując primery SZ1 5'-GGT ATG AGC ACA AAG AGA AGT-3', SZ2 5'-CTA GGG AAG GAG AGA GAG AAT-3'. 35 cykli: 30 s. denaturacji 94°C, 2 min anilingu w 21°C dla SZ1 i 23°C dla SZ2 elongacja w 72°C.

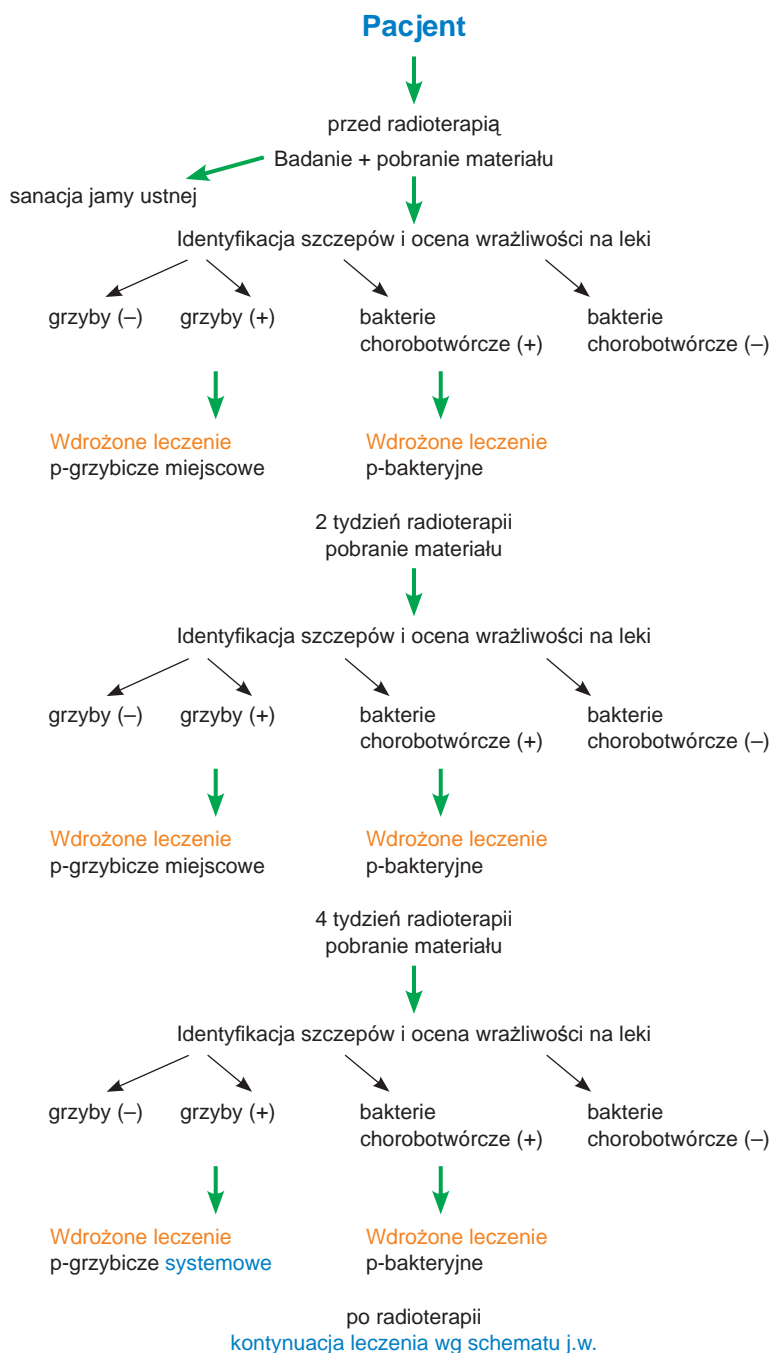
Produkty reakcji PCR zostały poddane elektroforezie w 2% żelu agarozowym w 0,5 buforze TBE. Po wybarwieniu bromkiem etydyny i wizualizacji w UV obraz zapisano przy wykorzystaniu zestawu Fotodyne Analyst.

3.2.5. Metody wspomagającego leczenia stomatologicznego

Leczenie pacjentów zakwalifikowanych do projektu badawczego przeprowadzono wg ustalonego – na potrzeby tej pracy – schematu (ryc. 11). Stanowi on własną modyfikację zasad postępowania, stosowanych standardowo w większości ośrodków onkologicznych [52, 112, 158]. U każdego chorego, przed pobraniem materiału do badań laboratoryjnych, przeprowadzano badanie przedmiotowe, a w przypadkach koniecznych wykonano sanację jamy ustnej. Były to przypadki, które należało zaopatrzyć w trybie natychmiastowym. Usunięto zęby z martwą miazgą, ze zmianami okołowierzchołkowymi, także te, w których doszło do zaostrenia procesu chorobowego i nasilenia dolegliwości bólowych, już w trakcie hospitalizacji i po rozpoczęciu radioterapii.

W grupie badanych, u których w hodowli wzrost grzybów drożdżopodobnych był średnio obfity, stosowano miejscowo terapię przeciwgrzybiczą. Najczęściej na tym etapie leczenia wdrażano – w oparciu o recepturę stosowaną w Uniwersyteckiej Klinice Stomatologicznej w Krakowie – płukankę i roztwór z nystatyną do pędzlowania jamy ustnej. Jeżeli miejscowa terapia przeciwgrzybicza była nieskuteczna, do eradykacji kolonii grzybiczych włączano celowane leczenie systemowe, oparte na wykonanym podczas badania mikologicznego mykogramie.

W grupie chorych, u których w hodowli stwierdzono występowanie bakteryjnych szczepów patologicznych, wdrażano leczenie antybakteryjne. Stosowano terapię systemową opartą na wykonanym podczas badania bakteriologicznego – antybiogramie. Podawano wówczas antybiotyk, na który wrażliwy był dany szczep.



Ryc. 11. Schemat stomatologicznego leczenia wspomagającego

3.3. Analiza statystyczna

Wyniki badań klinicznych i laboratoryjnych zostały zebrane w bazie danych, a następnie opracowane statystycznie przy użyciu programu *STATISTICA 7.1* oraz R [134]. Zebrany materiał opisano za pomocą statystyk opisowych. Dla zmiennych jakościowych wyliczono procenty. Część tych wyników przedstawiono na odpowiednich wykresach. Przy testowaniu hipotez przyjęto poziom istotności $\alpha = 0,05$. W analizie wykorzystano testy nieparametryczne: test χ^2 , nieparametryczny odpowiednik analizy wariancji (ANOVA) – test Friedmana dla zmiennych powiązanych oraz test *post hoc* po analizie Friedmana. Do porównania dwóch prób wykorzystano test Manna-Whitneya. W niektórych analizach otrzymane wyniki zilustrowano za pomocą wykresu ramkowego z wąsami.

We wszystkich analizach jako istotne przyjęto efekty, dla których poziom prawdopodobieństwa p był mniejszy od przyjętego poziomu istotności ($p < 0,05$).

ROZDZIAŁ 4. WYNIKI BADAŃ

4.1. Stan kliniczny błony śluzowej jamy ustnej i przyzębia

4.1.1. Stan kliniczny błony śluzowej jamy ustnej

Dla 47 z 82 pacjentów radioterapia była leczeniem uzupełniającym wcześniejszy zabieg chirurgiczny. U części z nich, jeszcze przed radioterapią, pojawiły się dolegliwości subiektywne: uczucie pieczenia, napięcia i suchości w jamie ustnej. W badaniu wstępnym – przed rozpoczęciem leczenia promieniami jonizującymi – 16 chorych (19,51%) podawało uczucie pieczenia w jamie ustnej, a 12 (14, 63%) – uczucie napięcia i suchości błony śluzowej (tabela V i VI).

Tabela V

Uczucie pieczenia w jamie ustnej

Uczucie pieczenia	Przed radioterapią	W 2. tygodniu radioterapii	W 4. tygodniu radioterapii	Po radioterapii
	Liczba pacjentów n (%)			
brak	66 (80,49)	45 (54,88)	26 (31,71)	70 (85,37)
występuje	16 (19,51)	37 (45,12)	56 (68,29)	12 (14,63)

W 2. tygodniu trwania radioterapii wzrosła liczba osób podających objaw pieczenia w jamie ustnej do 37 (45,12%), natomiast w 4. tygodniu leczenia chorych podających tę dolegliwość było 56 (68,29%). Dolegliwości te występowały niezależnie od wdrożonego leczenia stomatologicznego. Podobnie zwiększyła się liczba osób podających uczucie napięcia i suchości w jamie ustnej. W 2. tygodniu radioterapii 44 osoby (53,66%) skarżyły się na tę dolegliwość, w 4. tygodniu leczenia – 65 pacjentów (79,27%). W badaniu przeprowadzonym 4 tygodnie po zakończeniu terapii przeciwnowotworowej uczucie suchości błony śluzowej występowało u 20 chorych (24,39%).

Tabela VI

Uczucie suchości w jamie ustnej

Uczucie suchości	Przed radioterapią	W 2. tygodniu radioterapii	W 4. tygodniu radioterapii	Po radioterapii
	Liczba pacjentów n (%)			
brak	70 (85,37)	38 (46,34)	17 (20,73)	62 (75,61)
występuje	12 (14,63)	44 (53,66)	65 (79,27)	20 (24,39)

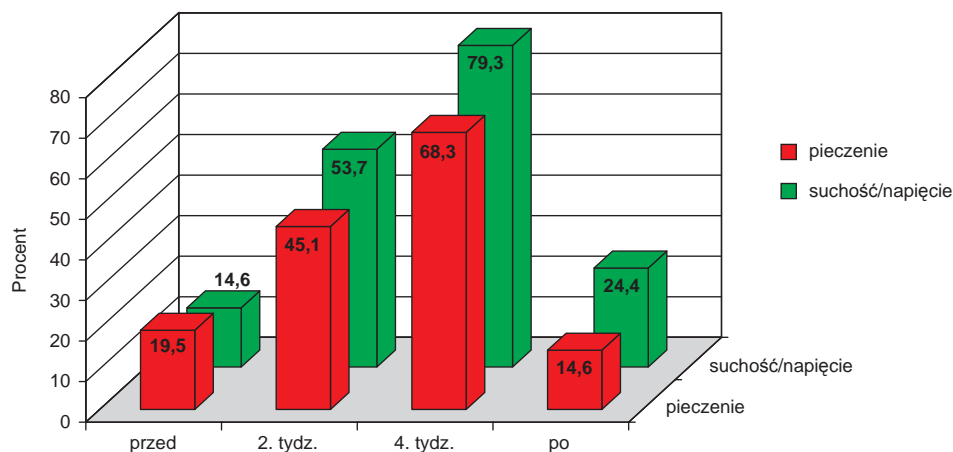
Wyniki statystyczne przedstawiono w tabeli VII; pokazuje ona różnice występujące pomiędzy poszczególnymi okresami badania – przed rozpoczęciem radioterapii, w 2., 4. tygodniu jej trwania i 4–6 tygodni po zakończeniu leczenia.

Tabela VII

Wykaz różnic testem χ^2 pomiędzy poszczególnymi okresami badania

Okresy badania	Pieczenie w jamie ustnej		Uczucie napięcia i suchości w jamie ustnej	
	p	Różnica poziom istotności $p \leq 0,05$	p	Różnica poziom istotności $p \leq 0,05$
przed*w 2. tyg.	0,0005	tak	0,0001	tak
w 2. tyg.*w 4. tyg.	0,0027	tak	0,0005	tak
w 4. tyg.*po	< 0,0001	tak	0,0001	tak
przed*po	0,4065	nie	0,1149	nie
przed*w 4. tyg.	0,0001	tak	< 0,0001	tak
w 2. tyg.*po	0,0001	tak	< 0,0001	tak

Rycina 12 ilustruje występowanie dolegliwości subiektywnych w jamie ustnej w poszczególnych okresach radioterapii. Widoczna jest zwiększająca się liczba pacjentów, którzy zgłaszają objaw pieczenia, jak również tych, u których występuje uczucie napięcia i suchości w jamie ustnej. Nie zaobserwowano różnic pomiędzy stanem wyjściowym – przed rozpoczęciem leczenia – a stanem po zakończeniu radioterapii. Nie ma również różnic między występowaniem uczucia napięcia i suchości a występowaniem pieczenia w jamie ustnej.



Ryc. 12. Odsetki osób zgłaszających dolegliwości subiektywne w jamie ustnej na poszczególnych etapach radioterapii. Kolorem zielonym oznaczono uczucie suchości i napięcia błony śluzowej jamy ustnej; kolorem czerwonym – pieczenie w jamie ustnej

Stan błony śluzowej jamy ustnej określano na podstawie badania przedmiotowego, a nasilenie zmian oceniano w 5-stopniowej skali Mucositis (wg WHO) [83, 142]. W badaniu wstępnym – przed radioterapią – u 12 pacjentów (14,63%) stan błony śluzowej jamy ustnej oceniono jako I°, u pozostałych chorych stwierdzono brak jakichkolwiek objawów. W 2. tygodniu leczenia u 17 osób (20,73%) stan błony śluzowej zakwalifikowano jako stopień I, a u 45 badanych (54,88%) – jako II°. U 20 pacjentów (24,39%) oceniono stan błony śluzowej jamy ustnej na III°. W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi stan chorych pogarszał się w znaczny sposób. Narastające dolegliwości bólowe, objawy zapalenia błony śluzowej (*oral mucositis*) z towarzyszącymi nadżerkami i owrzodzeniami, występująca kserostomia utrudniały spożywanie twardych pokarmów i znacznie pogarszały jakość życia. Mimo zastosowanego uzupełniającego leczenia stomatologicznego – u 41 chorych (50%) obserwowano III° nasilenia zmian na błonie śluzowej jamy ustnej, u 29 pacjentów (35,37%) stwierdzono w ocenie klinicznej II°, a tylko u 12 osób (14,63%) – I° (tabela VIII).

Tabela VIII

Ocena błony śluzowej w 5-stopniowej skali WHO

Ocena błony śluzowej (stopień)	Przed radioterapią	W 2. tygodniu leczenia	W 4. tygodniu leczenia
	Liczba pacjentów n (%)		
0	70 (85,4)	0 (0)	0 (0)
I	12 (14,6)	17 (20,7)	12 (14,6)
II	0 (0)	45 (54,9)	29 (35,4)
III	0 (0)	20 (24,4)	41 (50,0)
IV	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Stopień nawilżania błony śluzowej oceniano testem Mirror (MT) [79]. W badaniu wstępnym – przed radioterapią – 62 badanych (74,61%) miało prawidłowe nawilżenie błony śluzowej, określone jako I°, u 20 osób (24,39%) stwierdzono II°. W 2. tygodniu leczenia MT wykazał I° u 20 pacjentów (24,39%), II° – u 32 (39,02%), III° zaś – u 30 chorych (36,59%).

W 4. tygodniu terapii warunki w jamie ustnej pogorszyły się u większości pacjentów – u 62 osób (75,61%) – MT wykazywał III°. W badaniu kontrolnym – przeprowadzonym 4 tygodnie po zakończeniu leczenia, wynik MT pokrywał się z objawami uczucia suchości błony śluzowej jamy ustnej i w II° występował u 20 badanych (24,39%) (tabela IX).

Tabela IX

Test nawilżania błony śluzowej (Mirror Test)

Stopień	Przed radioterapią	W 2. tygodniu leczenia	W 4. tygodniu leczenia	Po radioterapii
	Liczba pacjentów n (%)			
I	62 (75,6)	20 (24,4)	10 (12,2)	62 (75,6)
II	20 (24,4)	32 (29,0)	10 (12,2)	20 (24,4)
III	0 (0)	30 (36,6)	62 (75,6)	0 (0)

4.1.2. Stan kliniczny przyzębia

Stan przyzębia określano za pomocą wskaźnika krwawienia z kieszeni dziąsłowej (SBI), aproksymalnego wskaźnika płytki (API) wg Langego i współpracowników oraz pomiaru głębokości kieszeni przyzębnych.

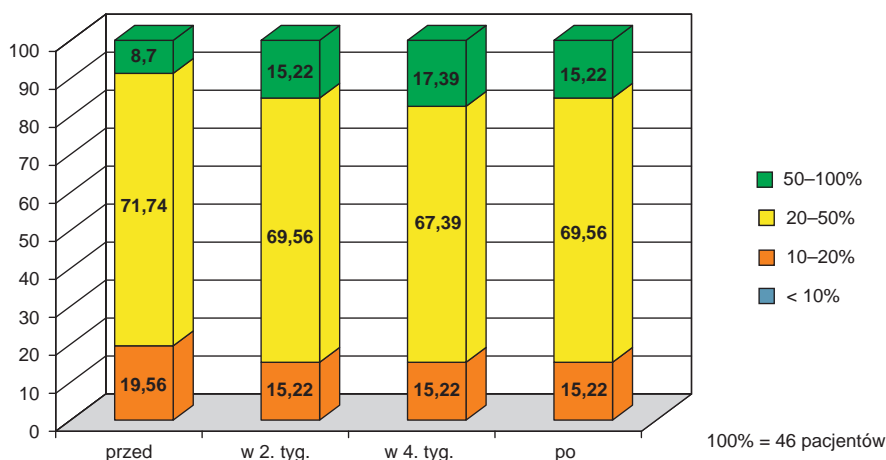
W badaniu wstępnym – przed rozpoczęciem leczenia napromieniowaniem – u żadnego z pacjentów, u których możliwa była ocena periodontologiczna (46 osób – 56,09%), nie stwierdzono klinicznie zdrowego przyzębia. U 9 chorych (19,56%) zanotowano łagodne zapalenie dziąseł, u 33 (71,74%) – umiarkowane zapalenie, u 4 osób (8,70%) – ciężkie i uogólnione zapalenie przyzębia (tabela X). Ten stan zmieniał się w czasie radioterapii, pogarszając klinicznie stan tkanek przyzębia. Zarówno w 2., jak i w 4. tygodniu leczenia wskaźnik SBI 10–20% występował u 7 (15,22%) badanych. Wskaźnik SBI o wartości 20–50% w 2. tygodniu oznaczono u 32 (69,56%), a w 4. – u 31 pacjentów (67,39%) (ryc. 13). Uogólnione zapalenie przyzębia (wskaźnik SBI 50–100%) stwierdzono w 2. tygodniu radioterapii u 7 (15,22%), natomiast w 4. tygodniu – u 8 chorych (17,39%) (tabela X). W badaniu kontrolnym – 4 tygodnie po zakończeniu leczenia – wartości wskaźnika SBI przedstawiały takie same wielkości, jak w 2. tygodniu terapii.

Tabela X

Wskaźnik krwawienia z kieszeni dziąsłowej (SBI)

SBI	Przed radioterapią	W 2. tygodniu leczenia	W 4. tygodniu leczenia	Po radioterapii
	Liczba pacjentów n (%)			
< 10%	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
20–10%	9 (19,6)	7 (15,2)	7 (15,2)	7 (15,2)
50–20%	33 (71,7)	32 (69,6)	31 (67,4)	32 (69,6)
100–50%	4 (8,7)	7 (15,2)	8 (17,4)	7 (15,2)

Na rycinie 13 przedstawiono procentowy udział pacjentów z określonym stopniem wskaźnika SBI przed leczeniem, w trakcie radioterapii oraz po jej zakończeniu.



Ryc. 13. Procentowy udział pacjentów z określonym stopniem wskaźnika SBI w czasie radioterapii

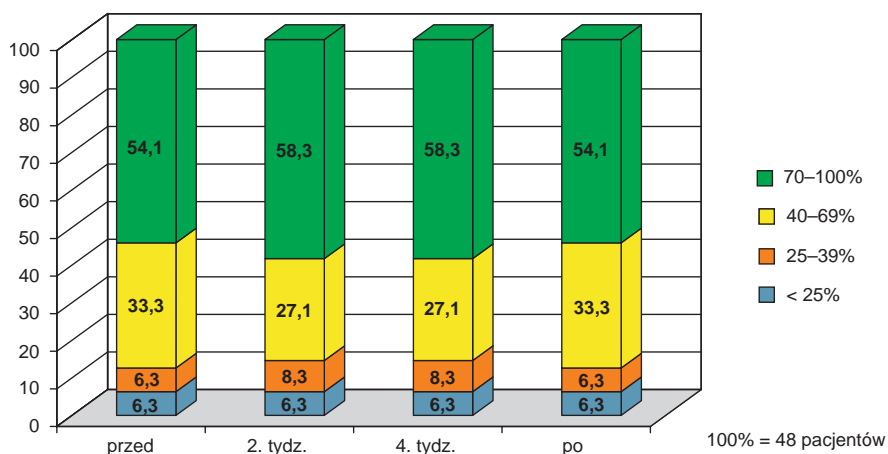
Ocenę stanu przyzębia za pomocą wskaźnika API przeprowadzono u 48 osób z grupy badanych. Pozostali pacjenci byli osobami bezzębnymi. W badaniu wstępnym – przed rozpoczęciem leczenia promieniami jonizującymi – wskaźnik API < 25%, oznaczający optymalną higienę jamy ustnej zanotowano u 3 osób (6,25%) i utrzymywał się on zarówno w 2., jak i w 4. tygodniu terapii (tabela XI). Wskaźnik API o wartości 25–39% – przed rozpoczęciem terapii – stwierdzono u 3 (6,25%), a w 2. i 4. tygodniu u 4 pacjentów (8,33%). Wskaźnik API przedstawiający wartości 40–69% zaobserwowano w badaniu wstępnym u 16 chorych (33,33%), natomiast w 2. i 4. tygodniu radioterapii występował on u 13 badanych (27,08%). Niewłaściwa higiena jamy ustnej została stwierdzona w pierwszym badaniu u 26 osób (54,17%), a zarówno w 2., jak i 4. tygodniu u 28 (58,34%). Wyniki w badaniu kontrolnym były identyczne jak w badaniu wstępnym (tabela XI).

Tabela XI

Aproksymalny wskaźnik płytki (API)

API	Przed radioterapią	W 2. tygodniu leczenia	W 4. tygodniu leczenia	Po radioterapii
	Liczba pacjentów n (%)			
< 25%	3 (6,3)	3 (6,3)	3 (6,3)	3 (6,3)
25–39%	3 (6,3)	4 (8,3)	4 (8,3)	3 (6,3)
40–69%	16 (33,3)	13 (27,1)	13 (27,1)	16 (33,3)
70–100%	26 (54,1)	28 (58,3)	28 (58,3)	26 (54,1)

Na rycinie 14 przedstawiono procentowy udział pacjentów z określonym stopniem wskaźnika API przed leczeniem, w trakcie radioterapii oraz po jej zakończeniu.



Ryc. 14. Procentowy udział pacjentów z określonym stopniem wskaźnika API w czasie radio-terapii

Głębokość kieszeni dziąsłowych (mierzonych periodontometrem wg WHO) określano wg II parametru wskaźnika przyzębia Kötschkego [79]. Wyniki pomiarów były zgodne z wynikami odnoszącymi się do oceny Wskaźnika krwawienia z kieszeni dziąsłowej (SBI) i wynosiły średnio: 2 – u 9 (19,56%), 4 – u 33 (71,74%) i 6 – u 4 chorych (8,70%) (tabela XII).

Tabela XII

Głębokość kieszonek wg wskaźnika Kótschkego

Wskaźnik	Przed radioterapią	W 2. tygodniu radioterapii	W 4. tygodniu radioterapii
	Liczba pacjentów n (%)		
2	9 (19,56)	9 (19,56)	9 (19,56)
4	33 (71,74)	33 (71,74)	33 (71,74)
6	4 (8,70)	4 (8,70)	4 (8,70)

4.2. Wyniki badań mikrobiologicznych

Od wszystkich badanych pacjentów pobierano wymazy z błony śluzowej policzka prawego oraz popłuczyny jamy ustnej. Pobrany materiał biologiczny posłużył do przeprowadzenia badań mikrobiologicznych, które obejmowały hodowlę, izolację i identyfikację poszczególnych szczepów bakteryjnych i grzybiczych według ogólnie przyjętych zasad w bakteriologii i mikologii. Dokonano oceny ilościowej wzrostu szczepów mikroorganizmów wyizolowanych z materiału klinicznego. Szczegółową charakterystykę poszczególnych drobnoustrojów określono na podstawie oceny wrażliwości na leki, właściwości enzymatycznych oraz testu adhezencji.

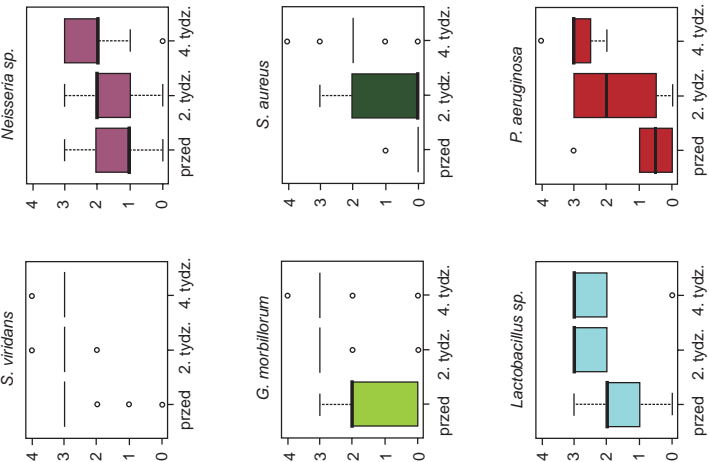
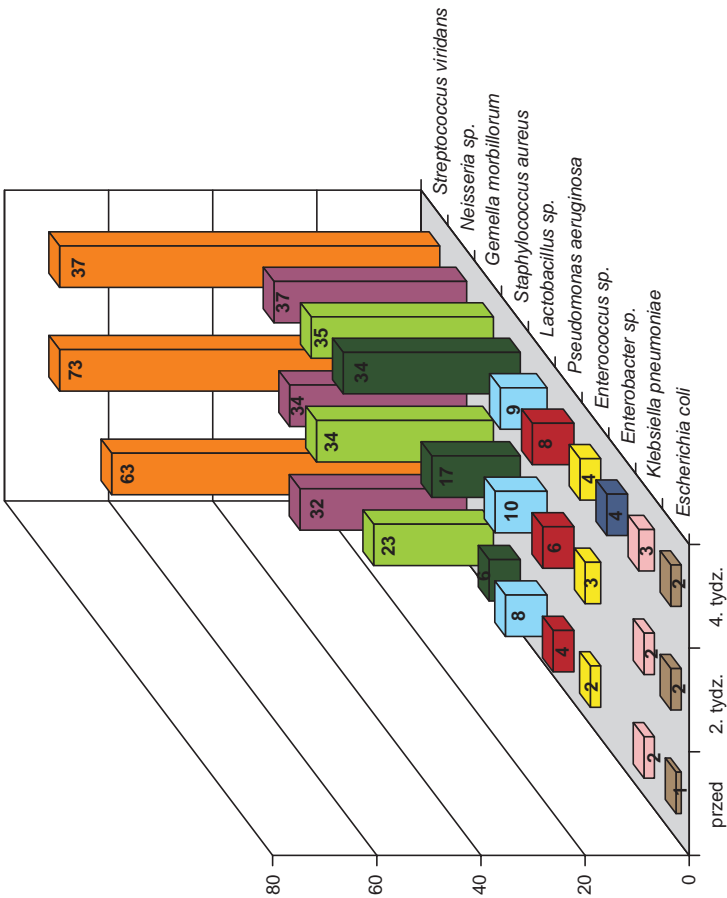
4.2.1. Wyniki badań bakteriologicznych

Badanie u pacjentów przeprowadzano przed zastosowaniem radioterapii, w 2. tygodniu jej trwania oraz w 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi.

Z pobranego od pacjentów materiału biologicznego wyhodowano różnorodną florę bakteryjną, którą zobrazowano w tabeli XIII i na rycinie 15. Dominowały następujące gatunki: *Streptococcus viridans* (izolowany u 73 pacjentów), *Neisseria sp.* (u 41 pacjentów), beztlenowa bakteria *Gemella morbillorum* (u 37 pacjentów), *Staphylococcus aureus* (u 35 pacjentów) oraz *Lactobacillus sp.* (u 10 pacjentów). Tylko 3 pacjentów nie miało dodatnich posiewów bakteryjnych przed rozpoczęciem radioterapii.

Oceniono dynamizm przyrostu flory bakteryjnej w czasie radioterapii. Statystycznie istotny przyrost intensywności wzrostu wystąpił u *S. viridans* (test Friedmana: $p = 0,000160$), *Neisseria sp.* ($p = 0,001489$), *G. morbillorum* ($p = 0,00041$), *S. aureus* ($p = 0,000022$), *Lactobacillus sp.* ($p = 0,005704$), *Pseudomonas aeruginosa* ($p = 0,001873$).

Zaobserwowano stopniowy wzrost intensywności wzrostu *S. viridans* i *P. aeruginosa* (różnica występuje między okresem przed leczeniem a 4. tygodniem leczenia, natomiast brak różnic między okresem przed leczeniem a 2. i 4. tygodniem leczenia w teście *post hoc*). U 4 pacjentów stwierdzono zakażenie *Pseudomonas aeruginosa* przed rozpoczęciem terapii. Liczba zakażonych pacjentów wzrosła do 6 w 2. tygodniu leczenia i do 8 w 4. tygodniu napromieniowania.



Ryc. 15. Jakościowa i ilościowa ocena wzrostu bakterii na poszczególnych etapach radioterapii. Po lewej zestawienie ilości izolatów poszczególnych gatunków bakterii w czasie radioterapii. Po prawej ocena zmian w intensywności (0 – brak wzrostu; 1 – skąpy; 2 – średnio obfity; 3 – obfity; 4 – bardzo obfity, zlewny) wzrostu wybranych gatunków bakterii w czasie radioterapii. Zwiększenie intensywności wzrostu świadczy o namnażaniu się tych bakterii. Poziomą kreską oznaczono medianę, kółkiem wartości odstające, ramka oznacza odchylenie kwartylowe, wąsy oznaczają przedział 5–95 procentyl

Po prawej ocena zmian w intensywności (0 – brak wzrostu; 1 – skąpy; 2 – średnio obfity; 3 – obfity; 4 – bardzo obfity, zlewny) wzrostu wybranych gatunków bakterii w czasie radioterapii. Zwiększenie intensywności wzrostu świadczy o namnażaniu się tych bakterii. Poziomą kreską oznaczono medianę, kółkiem wartości odstające, ramka oznacza odchylenie kwartylowe, wąsy oznaczają przedział 5–95 procentyl

Przyrost intensywności wzrostu bakterii *Neisseria sp.* i *Gemella morbillorum* nastąpił w pierwszej fazie badania, po czym utrzymywał się na stałym poziomie. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w teście *post hoc* po analizie Friedmana między intensywnością wzrostu w 2. i 4. tygodniu leczenia.

Największy dynamizm przyrostu wykazał *S. aureus*, który w miarę postępu radioterapii był izolowany u coraz większej liczby pacjentów; również intensywność wzrostu zwiększyła się do poziomu średnio obfitego (istotne statystycznie różnice na poziomie $\alpha = 0,05$ w teście *post hoc* po analizie Friedmana na każdym etapie radioterapii). Przed rozpoczęciem radioterapii u 6 pacjentów stwierdzono *S. aureus*. W 2. tygodniu leczenia bakteria ta występowała już u 17 osób, w tygodniu 4. zaś – u 34 (ryc. 15). Inne gatunki bakterii izolowano sporadycznie. Szczegółowe zestawienie różnic w intensywności wzrostu danego gatunku zebrano w tabeli XIII.

Tabela XIII

Zestawienie różnic w przyroście intensywności wzrostu bakterii pomiędzy poszczególnymi etapami leczenia

Bakteria	n	Wynik testu Friedmana (poziom p)	Różnice między poszczególnymi okresami badania na poziomie istotności $\alpha = 0,05$		
			przed * w 2. tyg.	przed * w 4. tyg.	w 2. tyg. * w 4. tyg.
<i>S. viridans</i>	73	0,000160	F	T	F
<i>Neisseria sp.</i>	41	0,001489	T	T	F
<i>G. morbillorum</i>	37	0,000415	T	T	F
<i>S. aureus</i>	35	0,000022	T	T	T
<i>Lactobacillus sp.</i>	10	0,005704	F	F	F
<i>P. aeruginosa</i>	8	0,001873	F	T	F

F – brak statystycznie istotnych różnic; T – różnice istotne statystycznie; n – liczba pacjentów, od których izolowano dany gatunek bakterii

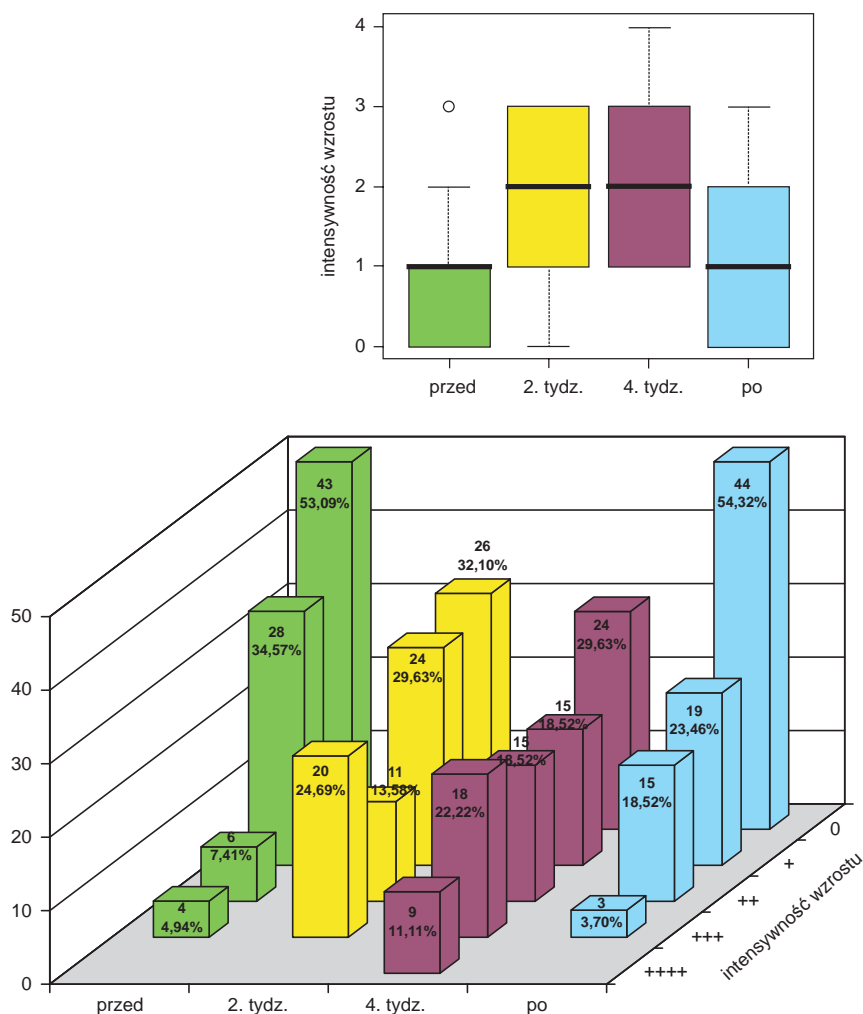
4.2.2. Wyniki badań mikologicznych

W grupie 82 chorych, którzy zostali włączeni do programu, przed rozpoczęciem leczenia nie wyhodowano grzybów u 44 pacjentów (53,66%), u 34 osób (41,47%) wzrost grzybów z rodzaju *Candida* oceniano jako słabo obfity (+) lub średnio obfity (++) (ryc. 16).

Badanie pacjentów wraz z pobraniem materiału do badania bakteriologicznego i mikologicznego powtarzano w 2. tygodniu radioterapii.

W tym okresie u 67,07% pacjentów występowały grzyby drożdżopodobne, a wzrost ich oceniano jako słabo obfity (+), średnio obfity (++) i obfity (+++). Oprócz szczepów *Candida albicans* wyhodowano między innymi *Candida glabrata*, *C. tropicalis* i *C. krusei*. Stan chorych pogorszył się w tym okresie – w 53,7% przypadków (44 osoby) pacjenci skarżyli się na dolegliwości ze strony błony śluzowej jamy ustnej (uczucie napięcia) i brak śliny, zwłaszcza w nocy.

Badanie mikologiczne powtarzano pod koniec 4. tygodnia radioterapii (ryc. 16). W okresie tym nastąpił wzrost występowania grzybów. W 10,98% przypadków (9 osób) szczepy grzybów drożdżopodobnych miały wzrost bardzo obfity, zlewny, a w 40,24% przypadków – obfity lub średnio obfity. Jednak nie stwierdzono różnic w teście *post hoc* po analizie Friedmana w intensywności wzrostu grzybów w 2. i 4. tygodniu radioterapii.



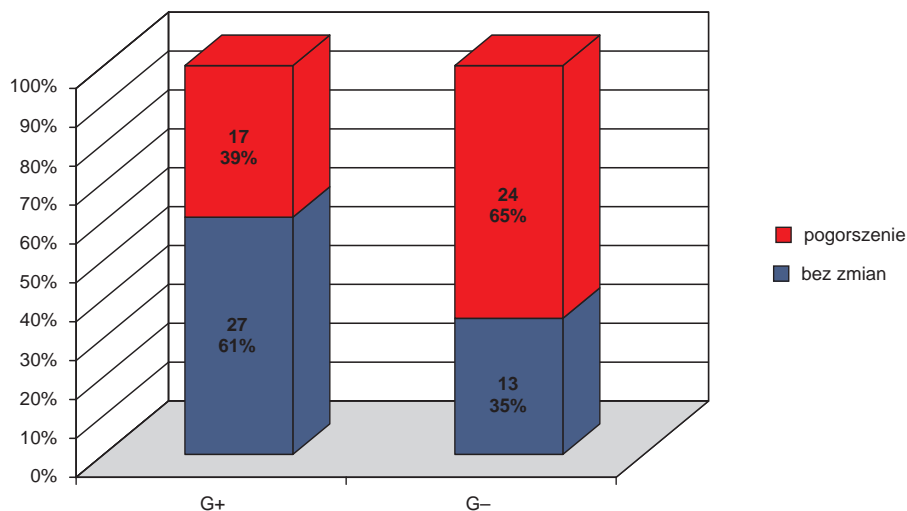
Ryc.16. Zmiana intensywności wzrostu grzybów w czasie radioterapii. U góry wykres ramka wąsy – linią oznaczono medianę, ramką odchylenie kwartylowe, wąsami 5–95 percentyl, kółkiem wartości odstające. (Analizowano tylko tych pacjentów, u których na którymkolwiek z etapów leczenia stwierdzono wzrost grzybów). Poniżej intensywność wzrostu grzybów na poszczególnych etapach wyrażona odsetkiem izolatów w danej grupie

Podczas kontynuowania radioterapii stan chorych pogarszał się znacznie i u większości (ponad 80%) pacjentów obserwowano objawy grzybicy jamy ustnej, zapalenie błony śluzowej (*oral mucositis*) z towarzyszącymi nadżerkami i owrzodzeniami.

W badaniu mikologicznym, wykonanym u pacjentów po zakończonej terapii promieniami jonizującymi, nie wyhodowano grzybów u 54,88% chorych (ryc. 16). Stwierdzono powrót intensywności wzrostu grzybów do stanu jaki obserwowano przed rozpoczęciem leczenia (test *post hoc* po analizie Friedmana na poziomie $\alpha = 0,05$).

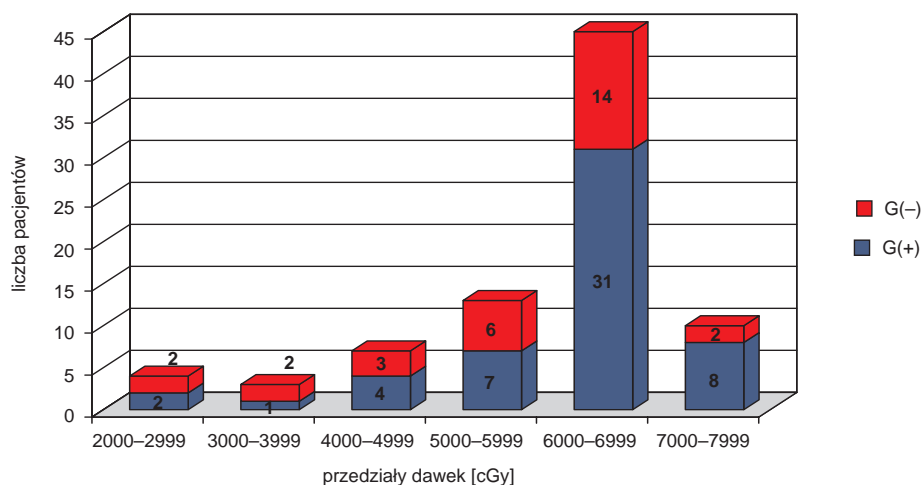
Rozkład intensywności wzrostu grzybów przed rozpoczęciem leczenia, w 2., 4. tygodniu radioterapii i po jej zakończeniu przedstawia rycina 16.

Oceniono rokowanie w grzybicy jamy ustnej w przypadku pacjentów, u których przed rozpoczęciem badania stwierdzono grzyby w porównaniu z tymi, u których tych grzybów nie stwierdzano. W grupie osób, u których stwierdzano grzyby przed rozpoczęciem radioterapii, pogorszenie stanu (zwiększenie obfitości wzrostu flory grzybiczej) nastąpiło u 39% pacjentów, w grupie, w której nie stwierdzano grzybów przed terapią – u 65% pacjentów. Różnice między grupami były istotne statystycznie (test χ^2 , $p = 0,02$) (ryc. 17).



Ryc. 17. Ocena zmian stanu pacjenta w zależności od występowania grzybów przed radioterapią; G(+) – występowanie grzybów przed radioterapią, G(–) – brak grzybów

Oceniono wpływ dawki promieniowania na występowanie grzybów w jamie ustnej pacjentów. Stwierdzono brak zależności pomiędzy występowaniem grzybów drożdżopodobnych a stosowaną w leczeniu dawką radioterapii ($p = 0,5663$) (ryc. 18).



Ryc. 18. Występowanie grzybów w zależności od dawki napromieniowania. Kolorem czerwonym oznaczono pacjentów bez grzybiczy [G(-)], niebieskim z obecną grzybicą [G(+)]

Przeprowadzono badanie 86 szczepów grzybów drożdżopodobnych wyizolowanych od 57 pacjentów. Szczepy należały do 8 gatunków w dwóch rodzajach: *Candida* (7 gatunków) i *Blastoschizomyces* (1 gatunek). Znaczna większość (ok. 70%) szczepów należała do gatunku *C. albicans*. Poza tym stwierdzono *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefyr* i *C. lusitaniae*. Ponadto, dwa wyhodowane szczepy należały do *Blastoschizomyces capitatis*. Dla wszystkich szczepów określono intensywność wzrostu, wrażliwość na leki przeciwgrzybicze: 5-fluorocytozynę (5-FC), amfoterycynę B (AMB), flukonazol (FCA), itraconazol (ITR), ketokonazol, mikonazol przy użyciu testu ATB Fungus 2 INT (bioMerieux) (tabela XIV) oraz na nystatynę (NYS) (metodą dyfuzyjno-krażkową). W tabeli XIV przedstawiono wyniki oznaczenia minimalnego stężenia hamującego wzrost (MIC) [$\mu\text{g/ml}$] w postaci średniej, zakresu i wartości modalnej (wartość występująca najczęściej) dla 5-FC, AMB, FCA i ITR w odniesieniu do poszczególnych gatunków wyizolowanych grzybów. Stwierdzono oporność szczepów *Candida albicans* na FCA i ITR. Oporność na FCA była potwierdzona klinicznie. Wszystkie szczepy wykazały się wrażliwością na AMB i 5-FC, a także NYS, dla której tylko jeden szczep wykazał średnią wrażliwość (tabela XV).

Dla badanych szczepów *Candida albicans* określono aktywność hydrolityczną 19 enzymów konstytutywnych przy użyciu testu API ZYM (bioMerieux) (ryc. 19). Listę enzymów ocenianych tym testem wraz z rozkładanymi przez nie substratami przedstawiono w tabeli XVI. Oceny dokonano w skali punktowej, w której 0 oznacza brak aktywności, 1–5 nmol/ml enzymu, 2–10 nmol/ml, 3–20 nmol/ml, 4–30 nmol/ml, 5–40 i więcej nmol/ml.

Tabela XIV

Wartości MIC badanych leków dla poszczególnych szczepów (mg/l)

	n	5-FC			AMB			FCA			ITR		
		Śr	Z	M	Śr	Z	M	Śr	Z	M	Śr	Z	M
<i>C. albicans</i>	63	0,5	–	0,5	0,5	–	0,5	44,2	0,25–128	128	2,1	0,125–4	4
<i>C. glabrata</i>	5	3,5	0,5–8	0,5	0,5	–	0,5	34,5	0,25–128	brak	0,825	0,125–2	0,5
<i>C. kefyr</i>	3	0,5	–	0,5	0,5	–	0,5	0,42	0,25–0,5	0,5	0,125	–	0,125
<i>C. krusei</i>	4	2,7	2–4	2	0,5	–	0,5	13,3	8–16	16	0,375	0,125–0,5	0,25
<i>C. lusitaniae</i>	3	0,5	–	0,5	0,5	–	0,5	2,2	0,5–4	brak	0,42	0,125–1	0,125
<i>C. pseudo-tropicalis</i>	1	0,5	–	0,5	0,5	–	0,5	0,25	–	0,25	0,25	–	0,25
<i>C. tropicalis</i>	5	0,5	–	0,5	0,5	–	0,5	68	8–128	brak	3,25	1–4	4
<i>B. capitatis</i>	2	0,5	–	0,5	0,5	–	0,5	1,5	1–2	brak	0,3125	0,125–0,5	brak

MIC – minimalne stężenie hamujące wzrost;

5-FC – fluorocytozyna, AMB – amfoterycyna B, FCA – flukonazol, ITR – itraconazol;

Śr – średnia, Z – zakres, M – modalna

Tabela XV

Ocena wrażliwości szczepów *Candida albicans* (n = 63)

	AMB		5-FC		FCA		ITR		NYS	
S	63	100%	63	100%	39	61,9%	23	36,5%	62	98,4%
I	0	0%	0	0%	3	4,8%	2	3,2%	1	1,65
R	0	0%	0	0%	21	33,3%	38	60,3%	0	0%

S – wrażliwe, I – średnio wrażliwe, R – odporne;

AMB – amfoterycyna B, 5-FC – fluorocytozyna, FCA – flukonazol,

ITR – itraconazol, NYS – nystatyna

Najwyższą aktywność wśród enzymów u badanych szczepów wykazała fosfataza kwaśna (e11) i aryamidaza leucynowa (e6), średnią – fosfohydrolaza naftolowa (e12), niską – fosfataza zasadowa (e2), aryamidaza walinowa (e7), esteraza (C4) (e3), lipaza esterazowa (C8) (e4), α -glukozydaza (e16), a także N-acetylo-b-glukozyloamidaza (e18). Wśród przebadanych szczepów aktywności nie wykazały enzymy – lipaza (C14) (e5), aryamidaza cystynowa (e8) oraz β -glukozydaza (e17) (ryc. 20, 21).

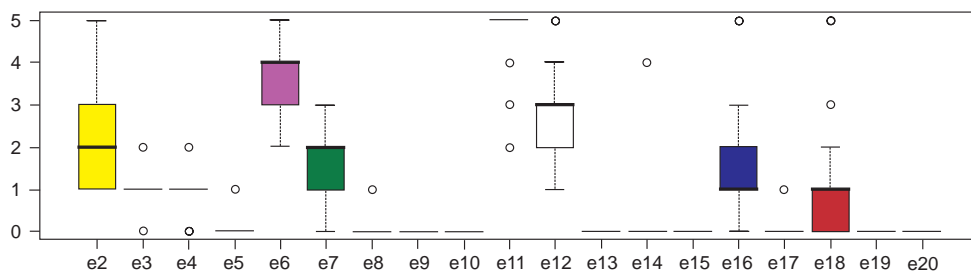
Tabela XVI

Enzymy oceniane testem API ZYM i rozkładane przez nie substraty

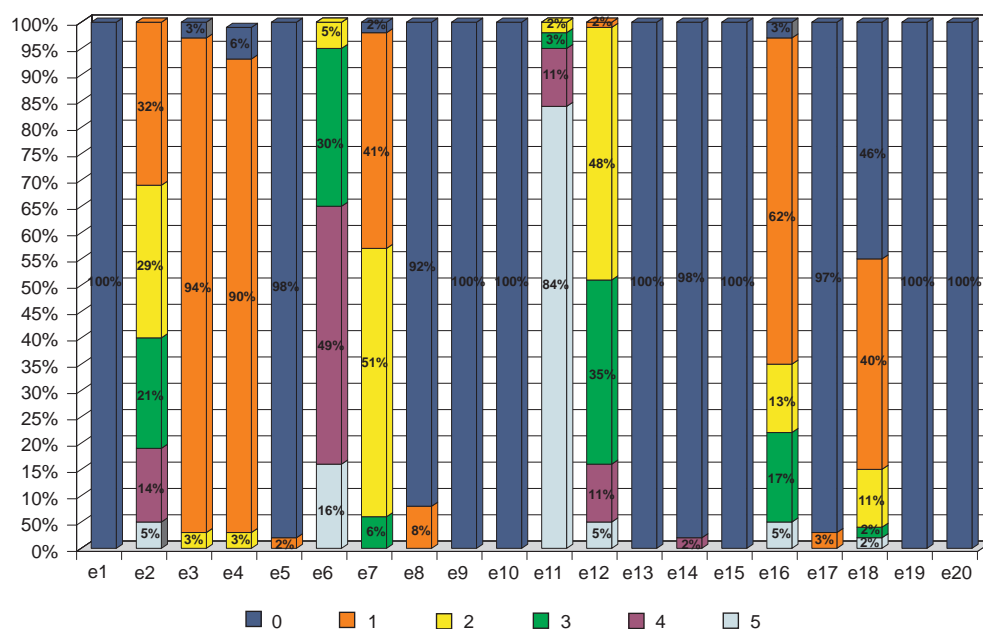
Oznaczenie	Enzym badany	Substrat
e1	kontrola ujemna	brak
e2	fosfataza zasadowa	2-naftylofosforan
e3	esteraza (C4)	2-naftylomaślan
e4	lipaza esterazowa (C8)	2-naftylokapronian
e5	lipaza (C14)	2-naftylomirystylan
e6	arylamidaza leucynowa	L-leucylo-2-naftyloamid
e7	arylamidaza walinowa	L-walinylo-2-naftyloamid
e8	arylamidaza cystynowa	L-cystynylo-2-naftyloamid
e9	trypsyna	N-benzylo-DL-arginino-2-naftyloamid
e10	chymotrypsyna	N-glutarylo-fenylalanino-2-naftyloamid
e11	fosfataza kwaśna	2-naftylofosforan
e12	fosfohydrolaza naftolowa	fosforan-AS-BI-naftolu
e13	α -galaktozydaza	6-Br-2-naftylo- α -D-galaktopiranoza
e14	β -galaktozydaza	2-naftylo-b-D-glukopiranoza
e15	β -glukoronidaza	Naftolu-AS-BI-b-D-glukoronid
e16	α -glukozydaza	2-naftylo- α -D-glukopiranoza
e17	β -glukozydaza	6-Br-2-naftylo-b-glukopiranoza
e18	N-acetylo-b-glukozyloamidaza	1-naftylo-N-acetylo-b-D-glukozyloamid
e19	α -mannozydaza	6-Br-2-naftylo- α -D-mannopiranoza
e20	α -fukozydaza	2-naftylo- α -L-fukopiranoza



Ryc. 19. Przykładowe paski API ZYM. Zmiany zabarwienia świadczą o aktywności danego enzymu. W pozycji 1 – kontrola ujemna



Ryc. 20. Rozkład aktywności poszczególnych enzymów hydrolitycznych szczepów *Candida albicans* (n = 63). Oznaczenia enzymów wg tabeli XIII. Gruba linia oznacza medianę, ramka – odchylenie kwartylowe, wąsy – 5–95 percentyli; kółkiem oznaczono wartości odstające



Ryc. 21. Aktywność enzymatyczna 63 szczepów *C. albicans* wyrażona odsetkiem szczepów, u których stwierdzono aktywność enzymu na danym poziomie w skali 0–5; e1–e20 oznaczają kontrolę i 19 enzymów (tabela XVI)

Na podstawie profilu enzymatycznego określono dla *C. albicans* przynależność do biotypu wg Williamsona [168], Kurnatowskiej i Kurnatowskiego [93], Krajewskiej-Kuła [85]. Ocena przynależności do danego biotypu wykazała, że w tej grupie pacjentów dominują 2 biotypy: biotyp „a” – 31 szczepów (49,21%) i biotyp „f” – 27 szczepów (42,86%), poza tym 2 szczepy zostały zaklasyfikowane do biotypu „e” (3,17%). Dla 2 szczepów (3,17%) pochodzących od jednego pacjenta oznaczenie biotypu było wątpliwe – 1 szczep zakwalifikowany został do biotypu „r” wg Krajewskiej-Kuła i współpracowników [88], drugiego nie udało się przyporządkować do żadnego znanego biotypu.

Ocena wrażliwości na leki wykazała, że wszystkie zbadane szczepy były wrażliwe AMB (MIC < 0,5 mg/l) oraz 5-FC (MIC < 0,5 mg/l). Wyniki badania wrażliwości na FCA i ITR przedstawiono w tabeli XVII. Stwierdzono, że wszystkie szczepy poza jednym były wrażliwe na NYC. Jeden określono jako średnio wrażliwy.

Porównano profile lekowrażliwości między dwoma najczęściej izolowanymi biotypami. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic (test Manna-Whitneya) między lekoopornością szczepów *C. albicans* biotypu „a” i biotypu „f” w przypadku FCA ($p = 0,2255$) i ITR ($p = 0,98$).

Tabela XVII

Wrażliwość na leki azolowe (FCA – flukonazol i ITR – itraconazol)
biotypów *Candida albicans*

FCA					ITR				
	biotyp a		biotyp f			biotyp a		biotyp f	
MIC	liczba	procent	liczba	procent	MIC	liczba	procent	liczba	procent
0,25	4	12,90	9	33,33	0,125	12	38,71	10	37,04
0,5	4	12,90	3	11,11	0,25	0	0,00	0	0,00
1	4	12,90	2	7,41	0,5	1	3,23	0	0,00
2	2	6,45	0	0,00	1	4	12,90	3	11,11
4	2	6,45	0	0,00	2	0	0,00	1	3,70
8	2	6,45	3	11,11	4	0	0,00	2	7,41
16	0	0,00	1	3,70	> 4	14	45,16	11	40,74
32	1	3,23	1	3,70					
64	1	3,23	0	0,00					
128	0	0,00	1	3,70					
> 128	11	35,48	7	25,93					
Razem	31	100	27	100		31	100	27	100

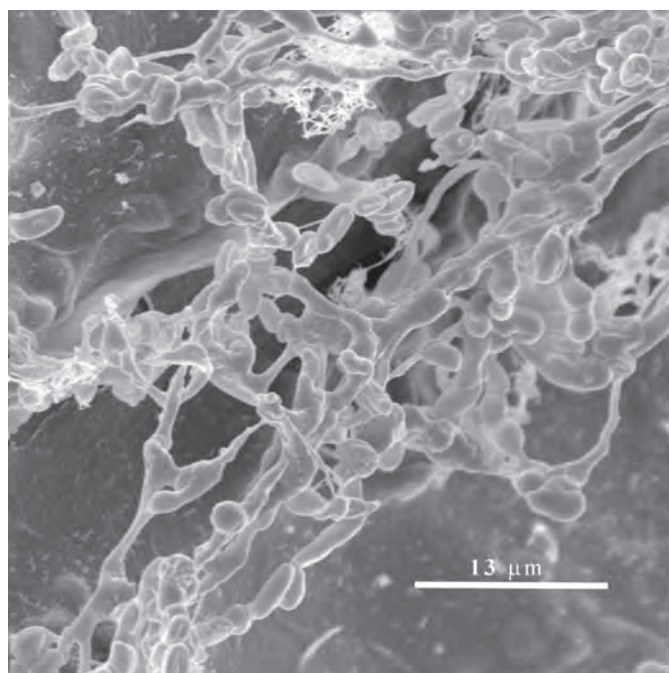
MIC – minimalne stężenie hamujące wzrost

Kolor zielony – szczepy wrażliwe; kolor pomarańczowy – szczepy średnio wrażliwe

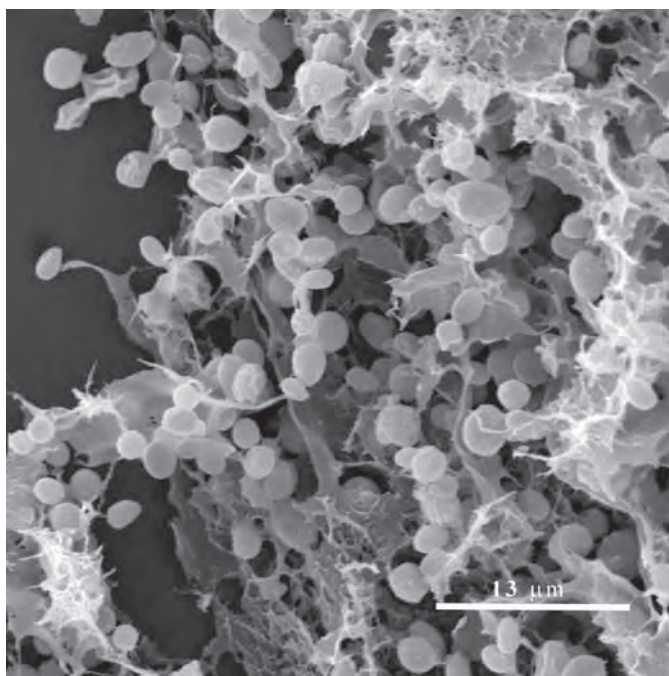
kolor czerwony – szczepy odporne

4.3. Obrazy kolonii grzybów w mikroskopie skaningowym

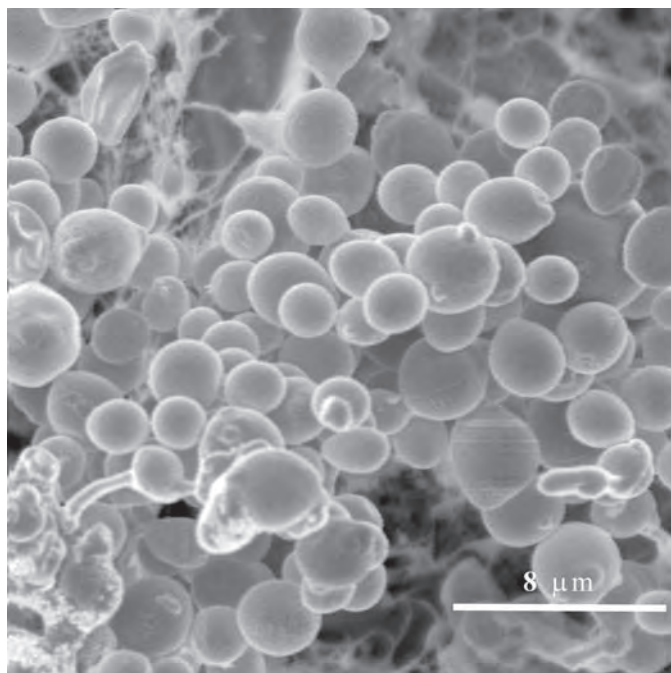
Z wyhodowanych kolonii grzybów rodzaju *Candida*, po odpowiednim przygotowaniu próbek i wykonanych rozmazach, otrzymano obrazy tych kolonii, które sfotografowano w skaningowym mikroskopie elektronowym (SEM). Zdjęcia przedstawiają kolonie grzybów rodzaju *Candida krusei* (ryc. 22) oraz *Candida albicans* (ryc. 23, 24).



Ryc. 22. *Candida krusei* w SEM (powiększenie 2000 x)



Ryc. 23. *Candida albicans* w SEM (powiększenie 2000 x)

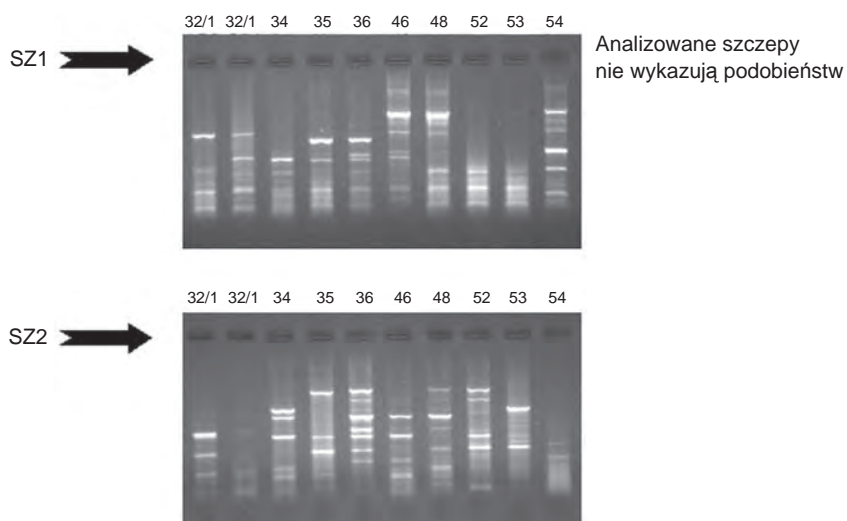


Ryc. 24. *Candida albicans* w SEM (powiększenie 3500 x)

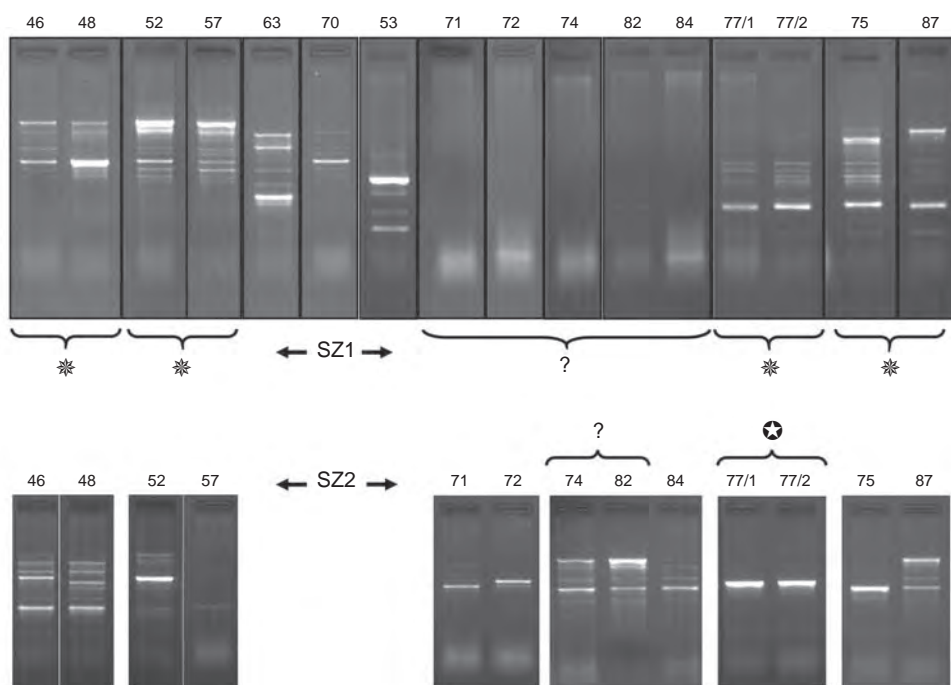
4.4. Wyniki badań genetycznych

Identyfikację podobieństw pomiędzy poszczególnymi szczepami wykonywano w dwóch etapach. W pierwszym – obserwacja wykazała znaczące różnice we wzorach prążkowych analizowanych próbek, nawet bez wyliczania współczynnika podobieństwa (ryc. 25).

W drugim etapie (ryc. 26) – w badanym materiale ustalono pełne podobieństwa (zgodność wzoru prążkowego w reakcji starterów SZ1 i SZ2) szczepów *Candida* w próbkach 77/1 i 77/2. Pozostałe, wykazujące częściowe podobieństwo (zgodność wzoru prążkowego w reakcji SZ1) szczepy to 46 i 48, 52 i 57 oraz 75 i 87. Szczepy 74 i 82 w reakcji SZ2 wykazują częściowe podobieństwo (zgodność wzoru prążkowego w reakcji SZ2). Szczepy wykazujące podobieństwa w reakcji SZ1 nie pochodziły z kolejnych izolacji próbek od tego samego pacjenta. Również reakcja SZ2 nie ujawniła podobieństw w szczepach izolowanych od tych samych pacjentów. Jedyny wyjątek stanowiły próbki 77/1 i 77/2, które wykazywały identyczność. Wyniki uzyskane w trakcie analiz wskazywały na całkowitą przypadkowość danych genotypów badanych szczepów.



Ryc. 25. Pierwszy etap badań genetycznych



Ryc. 26. Drugi etap badań genetycznych

- * – szczepy, które w reakcji identyfikacji SZ1 wykazały podobieństwo 95%
- ? – szczepy, w których reakcja identyfikacji ze starterami SZ1 nie zaszła
- ★ – szczepy o potwierdzonej identyczności w reakcji identyfikacyjnej ze starterami SZ2

4.5. Wybrane przypadki kliniczne – opis szczegółowy

Przypadek pierwszy. Pacjent W.K., lat 50. Rozpoznanie onkologiczne: *ca laryngis*. W wywiadzie – nie podaje chorób współistniejących. Pali papierosy (dziennie ponad 20 szt.) od 17 lat, w pracy narażony na działanie czynników szkodliwych (spaliny).

W badaniu wewnątrzustnym, przed rozpoczęciem radioterapii, stwierdzono rozległe braki zębowe (obecność jednego zęba trzonowego w szczęcie i 9 zębów w żuchwie, w tym 3 z próchnicą wtórną). Błona śluzowa jamy ustnej nie wykazywała zmian patologicznych. Wskaźnik SBI oceniono na 20%, wskaźnik API na 80%.

W leczeniu onkologicznym zastosowano radio- i chemioterapię. Dawka promienionowania: 66 Gy, podana w 33 frakcjach w ciągu 47 dni.

W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi wystąpiły rozległe zmiany na błonie śluzowej jamy ustnej, zlokalizowane głównie na podniebieniu (ryc. 27), a na języku stwierdzono nalot, jak w przebiegu kandydozy (ryc. 28). Pacjent zgłaszał objawy pieczenia i suchości w jamie ustnej. Zmiany na błonie śluzowej w skali WHO określono na II°/III°. Badanie mikologiczne potwierdziło występowanie grzybów (wzrost obfity +++), rodzaju *Candida*. W badaniu bakteriologicznym wyhodowano bakterię *Gemella morbillorum* (wzrost mierny ++).

Zastosowano:

- miejscowe leczenie antymikotyczne (płukankę z nystatyną);
- wit. A + D₃ do pędzlowania błony śluzowej podniebienia;
- 0,1% roztwór chlorheksydyny do płukania jamy ustnej (oprócz stosowanych zabiegów higienicznych);
- aby znieść dolegliwości związane z suchością w jamie ustnej, zalecono częste picie niegazowanej wody mineralnej.

Ponieważ objawy kliniczne kandydozy utrzymywały się (nalot na języku) (ryc. 29), w 6. tygodniu powtórzono badania mikologiczne (potwierdzające występowanie grzybów) i wdrożono systemowe leczenie przeciwgrzybicze.



Ryc. 27. 4. tydzień radioterapii. Widoczne zmiany na podniebieniu twardym i miękkim



Ryc. 28. 4. tydzień radioterapii. Grzybica języka (potwierdzone występowanie grzybów *Candida sp.* w badaniu mikologicznym)

Na skórę szyi stosowano maść łagodzącą objawy odczynu popromiennego (ryc. 30 i 31).

Wdrożone stomatologiczne leczenie wspomagające w znacznym stopniu zredukowało dolegliwości bólowe wynikające z powstałych na błonie śluzowej jamy ustnej zmian, a przez to poprawiło samopoczucie pacjenta.



Ryc. 29. 6. tydzień radioterapii. Grzybica języka (obecność szczepów *Candida* potwierdzona badaniem mikologicznym)



Ryc. 30. Odczyn popromienny na skórze szyi w 4. tygodniu radioterapii



Ryc. 31. Odczyn popromienny na skórze szyi w 6. tygodniu radioterapii

Przypadek drugi. Pacjent T.P., lat 68. Rozpoznanie onkologiczne: *ca linguae*. W wywiadzie pacjent nie podaje chorób współistniejących. Pali papierosy od 35 lat (do 20 szt. dziennie).

W badaniu wewnątrzustnym, przed rozpoczęciem radioterapii, stwierdzono stan po resekcji języka oraz bezzębnie całkowite.

Zastosowano radioterapię jako leczenie uzupełniające po zabiegu chirurgicznym. Dawka promieniowania: 60 Gy, podana w 30 frakcjach w ciągu 48 dni.

W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi wystąpiły wyraźne zmiany w jamie ustnej w postaci nadżerek i owrzodzeń, zlokalizowane głównie na błonie śluzowej policzka, wargi dolnej oraz na języku (ryc. 32). Pacjent zgłaszał objawy pieczenia w jamie ustnej oraz dolegliwości bólowe, uniemożliwiające mu spożywanie pokarmów. W kątach ust manifestowały się zmiany zapalne charakterystyczne dla *cheilitis angularis*. Zmiany na błonie śluzowej w skali WHO określono na III°. Wykonano badanie mikrobiologiczne – bakteriologiczne, które potwierdziło występowanie *Staphylococcus aureus*, oraz mikologiczne, które potwierdziło występowanie grzybów (wzrost obfity +++), rodzaju *Candida*. Pacjent był w złej kondycji psychofizycznej.



Ryc. 32. 4. tydzień radioterapii. Widoczne owrzodzenie na języku i błonie śluzowej wargi dolnej oraz w kącie ust



Ryc. 33. Odczyn popromienny na skórze szyi w 4. tygodniu radioterapii

Ze względu na stan chorego, zastosowano:

- miejscowe (płukankę z nystatyną) i systemowe leczenie przeciwgrzybicze;
- wit. A + D₃ do pędzlowania błony śluzowej policzka, wargi dolnej i języka;
- Solcoseryl pastę – na kąty ust;
- dodatkowo pacjent stosował żel znieczulający, który nakładał na błonę śluzową jamy ustnej przed przyjmowaniem pokarmów w formie płynnej.

Na skórę szyi stosowano maść łagodzącą objawy odczynu popromiennego (ryc. 33).

Wdrożone stomatologiczne leczenie wspomagające zredukowało dolegliwości bólowe związane z rozległymi zmianami na błonie śluzowej jamy ustnej, a także w kątach ust. Poprawiło to nie tylko samopoczucie pacjenta, ale również umożliwiło kontynuowanie radioterapii bez jej przerywania.

Przypadek trzeci. Pacjent W.Sz., lat 70. Rozpoznanie onkologiczne: *ca mesopharyngis*. W wywiadzie pacjent nie podaje chorób współistniejących. Pali papierosy od 30 lat (do 20 szt. dziennie).

W badaniu wewnątrzustnym, przed rozpoczęciem radioterapii, stwierdzono bezzębie całkowite, błona śluzowa nie wykazywała zmian patologicznych.

Zastosowano radio- i chemioterapię jako leczenie uzupełniające po zabiegu chirurgicznym. Dawka promieniowania: 48 Gy, podana w 24 frakcjach w ciągu 33 dni.

W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi pojawiły się wyraźne zmiany nadżerkowo-rumieniowe w jamie ustnej, zlokalizowane głównie na podniebieniu, języku (ryc. 34) i błonie śluzowej policzka. Zmiany na błonie śluzowej w skali WHO określono na II°. Na języku stwierdzono uwypuklone grzybicze naloty (ryc. 34 i 35). Pacjent zgłaszał objawy napięcia i suchości w jamie ustnej. Wykonano badanie mikrobiologiczne – bakteriologiczne, które potwierdziło występowanie bakterii *Gemella morbillorum* (wzrost mierny ++), oraz mikologiczne, które potwierdziło występowanie grzybów (wzrost obfity ++++) rodzaju *Candida*. Chory skarżył się też na złe samopoczucie.

Zastosowano:

- miejscowe leczenie przeciwgrzybicze (płukankę z nystatyną);
- wit. A + D₃ do pędzlowania błony śluzowej policzka i podniebienia;
- dodatkowo zalecono płukanie jamy ustnej 0,1% roztworem chlorheksydyny;
- aby znieść dolegliwości związane z suchością w jamie ustnej, zalecono częste picie niegazowanej wody mineralnej.

Ponieważ nie uzyskano ustąpienia klinicznych objawów grzybicy, a nalot na języku utrzymywał się, w 6. tygodniu powtórzono badania mikrobiologiczne (potwierdzające występowanie grzybów) i wdrożono systemowe leczenie przeciwgrzybicze.

Wdrożone stomatologiczne leczenie wspomagające zmniejszyło dolegliwości bólowe, spowodowało ustąpienie objawów napięcia i znacznie zredukowało uczucie suchości w jamie ustnej. Poprawiło również samopoczucie pacjenta.



Ryc. 34. 4. tydzień radioterapii. Widoczna zmiana nadżerkowo-rumieniowa na brzegu języka po stronie prawej oraz grzybica języka (obecność szczepów *Candida* potwierdzona badaniem mikologicznym)



Ryc. 35. 4. tydzień radioterapii. Widoczne zmiany na błonie śluzowej podniebienia oraz uwypuklone grzybicze naloty na języku

Przypadek czwarty. Pacjentka I.W., lat 63. Rozpoznanie onkologiczne: *ca mesopharyngis*. W wywiadzie pacjentka podaje przyjmowanie leków na nadciśnienie. Pali papierosy od 5 lat (do 20 szt. dziennie).

W badaniu wewnątrzustnym, przed rozpoczęciem radioterapii, stwierdzono pojedyncze braki zębowe w szczęcie (brak 4 zębów, 2 zęby z próchnicą wtórną) i żuchwie

(brak 2 zębów), błona śluzowa nie wykazywała zmian patologicznych. Wskaźnik SBI oceniono na 50%, wskaźnik API na 100%.

Jako leczenie onkologiczne wdrożono radio- i chemioterapię. Dawka promieniowania: 60 Gy, podana w 30 frakcjach w ciągu 50 dni.

W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi wystąpiły zmiany rumieniowe w jamie ustnej, zlokalizowane głównie na podniebieniu, a na języku wyraźnie uwypuklony białobrązowy nalot (ryc. 36). Pacjentka zgłaszała objawy pieczenia i suchości w jamie ustnej. Zmiany na błonie śluzowej w skali WHO określono na II°. Badanie mikologiczne potwierdziło występowanie grzybów (wzrost mierny ++) rodzaju *Candida*, badanie bakteriologiczne – występowanie bakterii *Lactobacillus* (wzrost obfity +++).

Zastosowano:

- miejscowe leczenie przeciwgrzybicze (płukankę z nystatyną);
- wit. A + D₃ do pędzlowania błony śluzowej podniebienia;
- dodatkowo zalecono płukanie jamy ustnej 0,1% roztworem chlorheksydyny;
- aby znieść dolegliwości związane z suchością w jamie ustnej, zalecono częste picie niegazowanej wody mineralnej.

Na skórę szyi stosowano masć łagodzącą objawy odczynu popromiennego (ryc. 37).



Ryc. 36. 4. tydzień radioterapii. Widoczna zmiana na podniebieniu oraz kandydoza na języku (obecność szczepów *Candida* potwierdzona badaniem mikologicznym)

Wdrożone stomatologiczne leczenie wspomagające złagodziło objawy pieczenia i suchości w jamie ustnej. Pozytywne ustosunkowanie się pacjentki do podjętej terapii poprawiło również jej samopoczucie.



Ryc. 37. Odczyn popromienny na skórze szyi w 4. tygodniu radioterapii

Przypadek piąty. Pacjent I.K., lat 66. Rozpoznanie onkologiczne: *ca nasopharyngis*. W wywiadzie pacjent podaje przyjmowanie leków na nadciśnienie. Pali papierosy od 40 lat (do 20 szt. dziennie), w pracy narażony na działanie czynników szkodliwych (spaliny).

W badaniu wewnątrzustnym, przed rozpoczęciem radioterapii, stwierdzono bezzębie górne oraz kły w żuchwie, błona śluzowa nie wykazywała zmian patologicznych.

Zastosowano radioterapię. Dawka promieniowania: 40 Gy, podana w 20 frakcjach w ciągu 55 dni.

W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi wystąpiły zmiany w jamy ustnej w postaci owrzodzeń, zlokalizowane głównie na podniebieniu, na błonie śluzowej policzków zaobserwowano leukoplakię (ryc. 38). Na języku stwierdzono nalot, jak w przebiegu kandydozy (ryc. 39). Wokół szyjek zębów 33 i 43 widoczne były złogi nazębne (ryc. 40), co świadczyło o nieprzestrzeganiu higieny. Pacjent zgłaszał objawy pieczenia i suchości w jamie ustnej oraz dolegliwości bólowe. Zmiany na błonie śluzowej w skali WHO określono na II°/III°. Badanie mikologiczne potwierdziło występowanie grzybów (wzrost obfity +++), rodzaju *Candida*. W badaniu bakteriologicznym wyhodowano bakterię *Gemella morbillorum* (wzrost obfity +++).

Zastosowano:

- miejscowe leczenie antymikotyczne (płukankę z nystatyną);
- wit. A + D₃ do pędzlowania błony śluzowej podniebienia;
- zwrócono uwagę na konieczność poprawy higieny jamy ustnej oraz płukanie jamy ustnej 0,1% roztworem chlorheksydyny;
- aby znieść dolegliwości związane z suchością w jamie ustnej, zalecono częste picie niegazowanej wody mineralnej;
- dodatkowo pacjent stosował żel znieczulający, który nakładał na błonę śluzową jamy ustnej przed przyjmowaniem pokarmów.

Pomimo zniesienia dolegliwości bólowych nie uzyskano ustąpienia objawów grzybicy, a nalot na języku się utrzymywał. W 6. tygodniu powtórzono badania mikro-

biologiczne (potwierdzające występowanie grzybów) i wdrożono systemowe leczenie przeciwgrzybicze.



Ryc. 38. 4. tydzień radioterapii. Widoczne owrzodzenia na podniebieniu oraz zmiana o charakterze leukoplakii na błonie śluzowej policzka po stronie lewej. Na języku – typowe zmiany grzybicze (obecność szczepów *Candida* potwierdzona badaniem mikologicznym)



Ryc. 39. 4. tydzień radioterapii. Na języku – zmiany grzybicze

Wdrożone stomatologiczne leczenie wspomagające zmniejszyło dolegliwości bólowe spowodowane zmianami na błonie śluzowej jamy ustnej i umożliwiło spożywanie pokarmów w formie papkowatej, co wcześniej nie było możliwe. Stan psychofizyczny pacjenta uległ znacznej poprawie.



Ryc. 40. Wokół szyjek zębów 33 i 43 widoczne złogi nazębne

Przypadek szósty. Pacjentka R.M., lat 52. Rozpoznanie onkologiczne: *ca mesopharyngis*. W wywiadzie pacjentka nie podaje chorób współistniejących. Pali papierosy (do 20 szt. dziennie) od 35 lat, nadużywa alkoholu. W wywiadzie rodzinnym – choroba nowotworowa (matka zmarła na białaczkę).

W badaniu wewnątrzustnym, przed rozpoczęciem radioterapii stwierdzono bezzębie szczęki oraz 3 zęby w zuchwie (z próchnicą wtórną), błona śluzowa nie wykazywała zmian patologicznych.

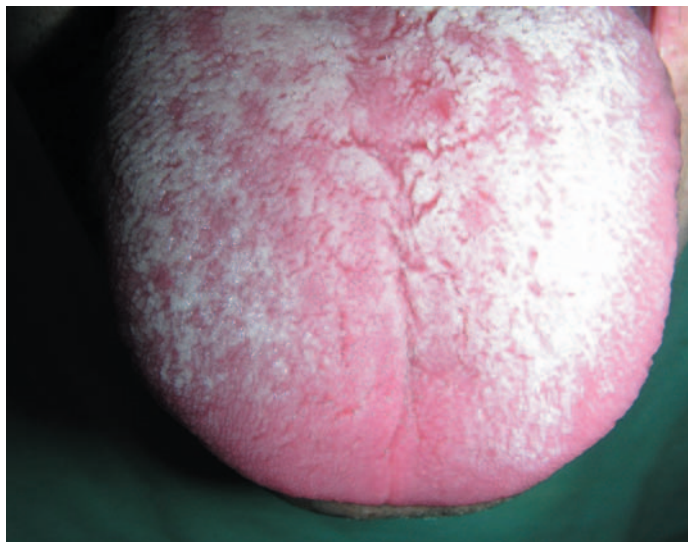
Zastosowano radioterapię jako leczenie uzupełniające po zabiegu chirurgicznym. Dawka promieniowania: 60 Gy, podana w 30 frakcjach w ciągu 43 dni.

W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi wystąpiły zmiany na języku o charakterze grzybiczym (ryc. 41). Wokół szyjek zębów widoczne były złogi nazębne oraz świeży osad, co świadczyło o nieprzestrzeganiu higieny. Pacjentka podawała uczucie pieczenia i suchości w jamie ustnej oraz dolegliwości bólowe. W jednym zębie (45) występowały objawy nieodwracalnego zapalenia miazgi. Zmiany na błonie śluzowej w skali WHO określono na II°. Badanie mikologiczne potwierdziło występowanie grzybów (wzrost obfity +++), rodzaju *Candida*. W badaniu bakteriologicznym wyhodowano bakterię *Gemella morbillorum* (wzrost mierny ++) oraz *Lactobacillus* (wzrost mierny ++).

Zastosowano:

- miejscowe leczenie przeciwgrzybicze (płukankę z nystatyną);
- zwrócono uwagę na konieczność poprawy higieny jamy ustnej oraz płukanie jamy ustnej 0,1% roztworem chlorheksydyny;
- aby znieść dolegliwości związane z suchością w jamie ustnej, zalecono częste picie niegazowanej wody mineralnej;
- w zębie 45 przeprowadzono leczenie endodontyczne.

Na skórę szyi stosowano maść łagodzącą objawy odczynu popromiennego (ryc. 42 i 43).



Ryc. 41. 4. tydzień radioterapii. Na języku – kandydoza (obecność szczepów *Candida* potwierdzona badaniem mikologicznym)

Ryc. 42.



Ryc. 43.



Odczyn popromienny na skórze szyi w 4. tygodniu radioterapii

Wdrożone stomatologiczne leczenie wspomagające zmniejszyło dolegliwości bólowe, spowodowało ustąpienie objawów napięcia i znacznie zredukowało uczucie suchości w jamie ustnej. Poprawiło również samopoczucie pacjentki.

Przypadek siódmy. Pacjent W.Sz., lat 57. Rozpoznanie onkologiczne: *ca laryngis*. W wywiadzie pacjent nie podaje chorób współistniejących. Palił papierosy przez 20 lat (do 20 szt. dziennie), od 4 lat nie pali. Nadużywał alkoholu.

W badaniu wewnątrzustnym, przed rozpoczęciem radioterapii, stwierdzono braki zębowe w szczęcie (brak 7 zębów, 3 zęby z czynną próchnicą) i w żuchwie (brak 4 zębów, 2 zęby z czynną próchnicą), błona śluzowa nie wykazywała zmian patologicznych. Wskaźnik SBI oceniono na 60%, wskaźnik API na 100%.

Zastosowano radioterapię jako leczenie uzupełniające po zabiegu chirurgicznym. Dawka promieniowania: 60 Gy, podana w 30 frakcjach w ciągu 50 dni.

W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi wystąpiły rozległe zmiany w postaci nadżerek i owrzodzeń, zlokalizowane głównie na podniebieniu (ryc. 44), języku (ryc. 45) i błonie śluzowej policzków (ryc. 44). Pacjent zgłaszał objawy pieczenia i suchości w jamie ustnej oraz dolegliwości bólowe. Zmiany na błonie śluzowej w skali WHO określono na III°. Badanie mikologiczne potwierdziło występowanie grzybów (wzrost mierny ++) rodzaju *Candida*. Badanie bakteriologiczne potwierdziło występowanie bakterii *Pseudomonas aeruginosa* (wzrost mierny ++) oraz *Gemella morbillorum* (wzrost obfity +++).

Zastosowano:

- miejscowe (płukankę z nystatyną) i systemowe leczenie przeciwgrzybicze;
- antybiotykoterapię w celu eradykacji bakterii;
- zwrócono uwagę na konieczność poprawy higieny jamy ustnej oraz płukanie jamy ustnej 0,1% roztworem chlorheksydyny;
- aby znieść dolegliwości związane z suchością w jamie ustnej, zalecono częste picie niegazowanej wody mineralnej oraz stosowanie siemienia lnianego;
- dodatkowo pacjent nakładał żel znieczulający na błonę śluzową jamy ustnej przed przyjmowaniem pokarmów.



Ryc. 44. 4. tydzień radioterapii. Widoczne zmiany na podniebieniu oraz owrzodzenie na błonie śluzowej policzka po stronie prawej



Ryc. 45. 4. tydzień radioterapii. Widoczne owrzodzenie na brzegu języka po stronie prawej

Wdrożone stomatologiczne leczenie wspomagające zredukowało dolegliwości bólowe związane z rozległymi zmianami na błonie śluzowej jamy ustnej. Poprawiło to nie tylko samopoczucie pacjenta, ale również umożliwiło kontynuowanie radioterapii bez jej przerywania.

Przypadek ósmy. Pacjent S.L., lat 59. Rozpoznanie onkologiczne: *ca tonsillae*. W wywiadzie pacjent podaje przyjmowanie leków na nadciśnienie. Pali papierosy przez 32 lata (do 20 szt. dziennie).

W badaniu wewnątrzustnym, przed rozpoczęciem radioterapii, stwierdzono pojedyncze zęby w szczęcie (6 zębów) i braki skrzydłowe w żuchwie (brak 7 zębów, pozostałe z czynną próchnicą), błona śluzowa nie wykazywała zmian patologicznych. Wskaźnik SBI oceniono na 40%, wskaźnik API na 80%.

Zastosowano radioterapię jako leczenie uzupełniające po zabiegu chirurgicznym. Dawka promieniowania: 60 Gy, podana w 30 frakcjach w ciągu 43 dni.

W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi wystąpiło zaczerwienienie błony śluzowej jamy ustnej z niewielkim obrzękiem. Pacjent skarżył się na nieznaczną suchość w jamie ustnej. Zmiany na błonie śluzowej w skali WHO określono na I°. Wykonano badanie mikrobiologiczne – bakteriologiczne i mikologiczne. Badanie mikologiczne nie potwierdziło występowania grzybów. W badaniu bakteriologicznym wyhodowano szczepy bakterii *Lactobacillus* (wzrost obfity +++), bakterii z grupy *Streptococcus* (wzrost obfity +++), oraz *Enterococcus* (wzrost obfity +++).

Zalecono:

- antybiotykoterapię w celu eradykacji bakterii;
- zwrócono uwagę na konieczność poprawy higieny jamy ustnej oraz płukanie 0,1% roztworem chlorheksydyny;
- aby znieść dolegliwości związane z suchością w jamie ustnej, zalecono częste picie niegazowanej wody mineralnej.

Wdrożone stomatologiczne leczenie wspomagające znacznie zredukowało uczucie suchości w jamie ustnej. Poprawiło również samopoczucie pacjenta.

Objawy próchnicy radiacyjnej (ryc. 46) zaobserwowano po 6 miesiącach od zakończenia radioterapii.



Ryc. 46. W okolicy szyjek zębów w żuchwie widoczny miękki osad i złogi nazębne. Pod nimi – próchnica radiacyjna obejmująca szyjki zębów, również od strony jamy ustnej właściwej

Przypadek dziewiąty. Pacjent B.W., lat 68. Rozpoznanie onkologiczne: *ca me-sopharyngis*. W wywiadzie pacjent nie podaje chorób współistniejących. Palił papierosy przez 20 lat (do 20 szt. dziennie), od 10 lat nie pali.

W badaniu wewnątrzustnym, przed rozpoczęciem radioterapii, stwierdzono braki międzyzębowe w szczęcie (brak 6 zębów) i w żuchwie (brak 5 zębów), błona śluzowa nie wykazywała zmian patologicznych. Wskaźnik SBI oceniono na 30%, wskaźnik API na 35%.

Zastosowano radioterapię jako leczenie uzupełniające po zabiegu chirurgicznym. Dawka promieniowania: 60 Gy, podana w 32 frakcjach w ciągu 44 dni.

W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi wystąpiło zaczerwienienie błony śluzowej jamy ustnej z niewielkim obrzękiem, zlokalizowane głównie na podniebieniu. Pacjent skarżył się na nieznaczna suchość w jamie ustnej. Zmiany na błonie śluzowej w skali WHO określono na II°. Wykonano badanie mikrobiologiczne – bakteriologiczne i mikologiczne. Badanie mikologiczne nie potwierdziło występowania grzybów. W badaniu bakteriologicznym wyhodowano szczepy bakterii *Lactobacillus* (wzrost obfity +++) oraz *Gemella morbillorum* (wzrost mierny ++).

Zastosowano:

- wit. A + D₃ do pędzlowania błony śluzowej podniebienia;
- płukanie jamy ustnej 0,1% roztworem chlorheksydyny po każdorazowym szczotkowaniu zębów;
- aby znieść dolegliwości związane z suchością w jamie ustnej, zalecono częste picie niegazowanej wody mineralnej.

Wdrożone stomatologiczne leczenie wspomagające znacznie zredukowało uczucie suchości w jamie ustnej. Poprawiło również samopoczucie pacjenta.

Pierwsze objawy próchnicy radiacyjnej zmanifestowały się odłamaniem koron klinicznych na wysokości szyjek zębów, po 8 miesiącach od zakończenia radioterapii. Pozostawione korzenie zębów nie kwalifikowały się do leczenia endodontycznego i odbudowy protetycznej. Rok po zakończeniu terapii promieniami jonizacyjnymi pacjentowi pozostały w szczęce tylko 3 (ryc. 47) z 10, istniejących przed napromieniowaniem zębów.



Ryc. 47. Stan uzębienia pacjenta rok po zakończeniu radioterapii. W okolicy szyjek zębów 11, 12, 13 widoczna próchnica radiacyjna

Przypadek dziesiąty. Pacjentka R.B., lat 54. Rozpoznanie onkologiczne: *ca laryngis*. W wywiadzie pacjentka podaje przyjmowanie leków na nadciśnienie. Pali papierosy od 20 lat (ponad 20 szt. dziennie).

W badaniu wewnątrzustnym, przed rozpoczęciem radioterapii, stwierdzono bezzębie w szczęce i braki zębowe w żuchwie (brak 7 zębów), błona śluzowa nie wykazywała zmian patologicznych. Wskaźnik SBI oceniono na 60%, wskaźnik API na 100%.

Zastosowano radioterapię jako leczenie uzupełniające po zabiegu chirurgicznym. Dawka promieniowania: 60 Gy, podana w 30 frakcjach w ciągu 43 dni.

W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi wystąpiły zmiany na błonie śluzowej jamy ustnej o charakterze nadżerek i owrzodzeń, zlokalizowane głównie na podniebieniu i na języku (ryc. 48). Pacjentka skarżyła się na nieznaczną suchość w jamie ustnej. Zmiany na błonie śluzowej w skali WHO określono na II°/III°. Wykonano badanie mikrobiologiczne – bakteriologiczne i mikologiczne. Badanie mikologiczne nie potwierdziło występowania grzybów. W badaniu bakteriologicznym wyhodowano

szczepy bakterii *Streptococcus* (wzrost obfity +++), *Enterobacter* (wzrost obfity +++), *Enterococcus* (wzrost mierny ++) oraz *Gemella morbillorum* (wzrost obfity +++). Pacjentka była w bardzo złej kondycji psychofizycznej – nie wierzyła, że leczenie może przynieść poprawę.

Zastosowano:

- wit. A + D₃ do pędzlowania błony śluzowej jamy ustnej oraz siemę lniane;
- zwrócono uwagę na konieczność poprawy higieny jamy ustnej oraz płukanie jamy ustnej 0,1% roztworem chlorheksydyny;
- aby znieść dolegliwości związane z suchością w jamie ustnej, zalecono częste picie niegazowanej wody mineralnej.

Pacjentka nie stosowała się do zaleceń higienicznych. Brak higieny spowodował nasilenie dolegliwości bólowych, które narastały wraz z trwającą radioterapią. Na pewien czas odroczone naświetlanie z powodu złej kondycji psychofizycznej chorej.

W 6. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi stan błony śluzowej w skali WHO określono na IV° i wdrożono odżywianie pozajelitowe.



Ryc. 48. 4. tydzień radioterapii. Widoczna zmiana na brzegu języka po stronie lewej oraz fragmenty koron zębów w zuchwie

Stosowano:

- żel znieczulający, który pacjentka nakładała na błonę śluzową jamy ustnej, aby zmniejszyć dolegliwości bólowe.

Wdrożone stomatologiczne leczenie wspomagające w pewnym stopniu zredukowało dolegliwości bólowe w jamie ustnej. Poprawiło nieznacznie samopoczucie pacjentki, której zabrakło motywacji do walki z chorobą nowotworową.

Objawy próchnicy radiacyjnej zaobserwowano po 3 miesiącach od radioterapii. Oprócz tego bardzo nasiliły się objawy zapalenia dziąseł (ryc. 49).



Ryc. 49. Ta sama pacjentka 6 miesięcy po zakończeniu radioterapii. Widoczna próchnica radiacyjna, złogi nazębne przykrywające całe korony kliniczne zębów oraz stan zapalny dziąseł

Przypadek jedenasty. Pacjent F.S., lat 65. Rozpoznanie onkologiczne: *ca laryngis*. W wywiadzie pacjent podaje przyjmowanie leków na nadciśnienie. Palił papierosy przez 45 lat (ponad 20 szt. dziennie), od pół roku nie pali.

W badaniu wewnątrzustnym, przed rozpoczęciem radioterapii, stwierdzono bezzębie w szczęcie i pojedyncze zęby w żuchwie (4 zęby, w tym 2 z czynną próchnicą), błona śluzowa nie wykazywała zmian patologicznych.

Zastosowano radioterapię jako leczenie uzupełniające po zabiegu chirurgicznym. Dawka promieniowania: 60 Gy, podana w 24 frakcjach w ciągu 37 dni.

W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi wystąpiło zaczerwienienie błony śluzowej jamy ustnej z niewielkim obrzękiem. Pacjent skarżył się na nieznaczną suchość w jamie ustnej. Zmiany na błonie śluzowej w skali WHO określono na I°. Wykonano badanie mikrobiologiczne – bakteriologiczne i mikologiczne. Badanie mikologiczne nie potwierdziło występowania grzybów. W badaniu bakteriologicznym wyhodowano szczepy bakterii *Streptococcus* (wzrost obfity +++), *Gemella morbillorum* (wzrost obfity +++), oraz *Staphylococcus aureus* (wzrost mierny ++).

Zwrócono uwagę na:

- konieczność poprawy higieny jamy ustnej oraz płukanie jamy ustnej 0,1% roztworem chlorheksydyny;
- aby zmniejszyć dolegliwości związane z suchością w jamie ustnej, zalecono częste picie niegazowanej wody mineralnej.

Pacjent nie stosował się do zaleceń higienicznych.

Objawy próchnicy radiacyjnej zaobserwowano po 5 miesiącach od radioterapii (ryc. 50).



Ryc. 50. Widoczna próchnica radiacyjna obejmująca szkliwo i zębinę koron zębów. W okolicy przyszyjkowej widoczne złogi nazębne

Przypadek dwunasty. Pacjent S.Z., lat 51. Rozpoznanie onkologiczne: *ca laryngis*. W wywiadzie pacjent nie podaje chorób współistniejących. Palił papierosy przez 25 lat (ponad 20 szt. dziennie), od roku nie pali.

W badaniu wewnątrzustnym, przed rozpoczęciem radioterapii, stwierdzono pojedyncze zęby w szczęcie (6 zębów z czynną próchnicą) oraz pojedyncze braki zębowe w żuchwie (brak 6 zębów, 3 zęby z próchnicą wtórną), błona śluzowa nie wykazywała zmian patologicznych. Wskaźnik SBI oceniono na 40%, wskaźnik API na 70%.

Zastosowano radioterapię jako leczenie uzupełniające po zabiegu chirurgicznym. Dawka promieniowania: 60 Gy, podana w 30 frakcjach w ciągu 43 dni.

W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi wystąpiły zmiany na języku o charakterze grzybiczym. Wokół szyjek zębów widoczne były złogi nazębne oraz świeży osad, co świadczyło o nieprzestrzeganiu higieny. Pacjent podawał uczucie pieczenia i suchości w jamie ustnej oraz dolegliwości bólowe. Zmiany na błonie śluzowej w skali WHO określono na II°. Badanie mikologiczne potwierdziło występowanie grzybów (wzrost obfity +++), rodzaju *Candida*. W badaniu bakteriologicznym wyhodowano szczepy bakterii *Streptococcus* (wzrost obfity +++), oraz *Gemella morbillorum* (wzrost obfity +++).

Zastosowano:

- miejscowe leczenie przeciwgrzybicze (płukankę z nystatyną);
- antybiotykoterapię w celu eradykacji bakterii;
- zwrócono uwagę na konieczność poprawy higieny jamy ustnej oraz płukanie jamy ustnej 0,1% roztworem chlorheksydyny;
- aby znieść dolegliwości związane z suchością w jamie ustnej, zalecono częste picie niegazowanej wody mineralnej.

Ponieważ nie uzyskano ustąpienia objawów grzybicy, a nalot na języku utrzymywał się, w 6. tygodniu powtórzono badania mikrobiologiczne (potwierdzające występowanie grzybów) i wdrożono systemowe leczenie przeciwgrzybicze.

Wdrożone stomatologiczne leczenie wspomagające zmniejszyło dolegliwości bólowe, spowodowało ustąpienie objawów napięcia i znacznie zredukowało uczucie suchości w jamie ustnej. Poprawiło również samopoczucie pacjenta.

Objawy próchnicy radiacyjnej zaobserwowano po 8 miesiącach od radioterapii. Pierwsze objawy zamanifestowały się odłamaniami koron klinicznych na wysokości szyjek zębów w szczęce. Pozostawione korzenie zębów nie kwalifikowały się do leczenia endodontycznego i odbudowy protetycznej i zostały usunięte. Równocześnie zwiększyła się nadwrażliwość na bodźce termiczne zębów w żuchwie. Pacjent nie stosował się do zaleceń higienicznych. Rok po zakończeniu leczenia promieniami jonizacyjnymi badanie mikologiczne potwierdziło występowanie grzybów rodzaju *Candida* (ryc. 51). Zaobserwowano próchnicę radiacyjną w żuchwie (ryc. 52).



Ryc. 51. Widoczny nalot na języku o charakterze grzybiczym (obecność szczepów *Candida* potwierdzona badaniem mikologicznym)



Ryc. 52. Stan uzębienia pacjenta rok po zakończeniu radioterapii. W okolicy szyjek zębów w żuchwie widoczna próchnica radiacyjna oraz złogi nazębne pokryte miękkim osadem

ROZDZIAŁ 5. DYSKUSJA

Według European Society for Medical Oncology nowotwory złośliwe jamy ustnej i gardła są w krajach rozwiniętych na ósmym miejscu w kolejności najczęściej występujących nowotworów (wg liczby zachorowań), w krajach rozwijających się – na miejscu trzecim [4]. Z polskich danych epidemiologicznych wynika, że w roku 2003 odnotowano w naszym kraju 5700 nowych zachorowań na nowotwory tego rejonu i 3600 zgonów z tego powodu [171]. Podstawowymi czynnikami rakotwórczymi jest ekspozycja błon śluzowych na dym tytoniowy i wysokoprocentowy alkohol. Każdy z tych dwóch czynników zwiększa 2–3 razy ryzyko zachorowania na raka jamy ustnej, gardła i krtani, wspólnie powodują ponad 15-krotny wzrost ryzyka. Chorych charakteryzuje skłonność do nadużywania obu wymienionych używek [52]. Innymi znanymi czynnikami przyczynowymi w tej grupie nowotworów są zła higiena jamy ustnej oraz mechaniczne, przewlekłe drażnienie błony śluzowej (między innymi źle dopasowane protezy stomatologiczne, nieprawidłowo wykonane stałe uzupełnienia protetyczne, nieprawidłowo wykonane wypełnienia stomatologiczne, ostre krawędzie zębów).

Badania własne potwierdziły, że grupa opisywanych pacjentów to osoby, które w ponad 90% są nałogowymi palaczami, a niektórzy z nich palą ponad 20 papierosów dziennie od 30–40 lat. Jedna trzecia chorych to osoby, które nadużywają alkoholu. Należy zaznaczyć, że u pacjentów leczonych z powodu raka narządów głowy i szyi stwierdza się duże zaniedbania higieny jamy ustnej, a także duże potrzeby leczenia stomatologicznego. Potwierdzają to również badania przeprowadzone i opisane przez Jobbinsa i współpracowników [71], którzy w grupie obserwowanej mieli 45% chorych z istotnymi problemami z zębami.

W badaniach własnych u 26 pacjentów stwierdzono całkowite bezzębie. Cztery osoby użytkowały protezy, 22 nigdy protez nie miały. U znacznej części chorych potwierdzono cechy umiarkowanego zapalenia dziąseł, wymagającego intensywnego leczenia periodontologicznego, u części z nich wartość wskaźnika krwawienia z kieszonki dziąsłowej SBI oceniono na stopień, który obrazuje ciężkie i uogólnione zapalenie przyzębia. Wyniki te ukazują specyfikę grupy środowiskowej, z której wywodzą się chorzy, niedbający nie tylko o prawidłowe funkcjonowanie układu stomatognatycznego, ale również o swój wygląd zewnętrzny.

Dolegliwością pojawiającą się najwcześniej, z reguły po kilku dniach od rozpoczęcia radioterapii, są objawy kliniczne będące wyrazem odczynów popromiennych. Ostry odczyn popromienny manifestuje się morfologicznymi uszkodzeniami tkanki lub narządu oraz zaburzeniami czynnościowymi, które powstają w wyniku tych uszkodzeń.

Często towarzyszą im efekty ogólne – spadek masy ciała i osłabienie. Ostry odczyn popromienny występuje w mniejszym lub większym stopniu w narządach znajdujących się w napromienianej objętości, ale na plan pierwszy wysuwają się dolegliwości związane z uszkodzeniem błony śluzowej. W rejonie głowy i szyi obszar napromieniania obejmuje zwykle jamę ustną, gardło i krtani (narządy wyściełane błoną śluzową), których uszkodzenie może prowadzić do znacznego upośledzenia podstawowych czynności organizmu [114, 163].

W przebiegu ostrego popromiennego uszkodzenia (zapalenia) błony śluzowej jamy ustnej (*oral mucositis*) można wyróżnić 4 fazy – zapalno-naczyniową, nabłonkową, wrzodziejąco-bakteryjną oraz gojenia [83, 125, 128, 153]. Na początku występuje rumień (przekrwienie) błony śluzowej, który zapoczątkowuje fazę naczyniową procesu zapalnego i jest wyrazem uszkodzenia komórek śródbłonna naczyń [150, 152]. Jednocześnie narastająca depopulacja komórek nabłonkowych prowadzi do ubytków w błonie śluzowej – epitelioлиз (*epitheliolysis*) – wypełnianych stopniowo przez wysięk zapalny. W miarę kontynuacji radioterapii objawy ostrego popromiennego odczynu śluzówkowego utrzymują się na poziomie rozlanego zapalenia, które obserwuje się nieraz do kilku tygodni po zakończeniu leczenia. Ostatnio zwraca się uwagę na fakt, że ostry odczyn śluzówkowy jest spowodowany nie tylko zmniejszeniem ilości komórek nabłonka, lecz w jego patogenie istotną rolę odgrywają mechanizmy humoralne, przebiegające w błonie podstawnej i podśluzowej, związane z wydzielaniem wielu mediatorów stanu zapalnego, powstającego w wyniku działania promieniowania jonizującego. Należą tu interleukiny, *tumor necrosis factor* α (TNF α), *transforming growth factor* β 3 (TGF- β 3), pochodne kwasu arachidonowego (prostanoidy i leukotrieny) i aminy (histamina, serotonina) [46, 83, 128, 150, 153]. Ostry popromienny odczyn śluzówkowy może też ulegać dalszej progresji, przechodząc w tzw. fazę wrzodziejąco-bakteryjną, która jest wyrazem uszkodzenia błony podstawnej i infekcji tkanek położonych podśluzówkowo [46, 163]. Objawom tym często towarzyszy obrzęk błony śluzowej, wynikający ze wzrostu przepuszczalności drobnych naczyń krwionośnych i chłonnych w następstwie depopulacji komórek śródbłonna. Ich ubytek prowadzi do przesieku osocza do przestrzeni okołonaczyniowej. Obserwowane okresowo krwawienie błony śluzowej jest następstwem rozległych, głębokich ubytków obejmujących blaszkę właściwą i błonę podśluzową, powodujących odsłonięcie drobnych naczyń krwionośnych. Krwawienie może pojawiać się w wyniku drażnienia mechanicznego – podczas spożywania pokarmów, szczotkowania zębów lub też występować samoistnie.

Kliniczne objawy *oral mucositis* można podzielić na wczesne i późne. Początkowo pojawia się dyskomfort w jamie ustnej, wzmożona wrażliwość na pokarmy – gorące i kwaśne, na błonie śluzowej można zaobserwować plamy rumieniowe, czasem pokryte białym nalotem. Podobne spostrzeżenia zanotowali i opisali dwaj autorzy – Carl i Emrich [24], którzy zbadałi 98 pacjentów, u których przeprowadzono radioterapię z powodu nowotworów jamy ustnej, otrzymujących w trakcie leczenia dawkę ponad 50 Gy. U badanych wystąpił 2 i 3 stopień zapalenia błony śluzowej jamy ustnej (w 3-stopniowej skali stosowanej przez autorów). U pacjentów leczonych promieniami jonizującymi w okresie późniejszym tworzą się owrzodzenia, dochodzi do rozwoju wtórnych infekcji z towarzyszącym bólem, często o dużym natężeniu. Zmiany o największym nasileniu pojawiają na obszarach błony śluzowej ruchomej, nierogowaciejącej – na policzkach, podniebieniu miękkim, w części śluzowej warg i w dnie jamy ustnej [45, 55, 127, 128,

145, 151]. Dolegliwości bólowe sprawiają, iż chorzy wymagają wówczas podania środków przeciwbólowych oraz zmiany diety na półpłynną. Gdy powierzchnia zmian o charakterze rozlanej epiteliolizy przekracza 50% powierzchni obszaru napromienianego, pojawia się konieczność stosowania diety płynnej lub założenia sondy dożołądkowej.

Badania własne są zgodne z danymi z piśmiennictwa dotyczącymi wystąpienia i przebiegu *oral mucositis*. W 2. tygodniu trwania radioterapii u ponad połowy chorych zanotowano objawy ostrego popromiennego odczynu śluzówkowego. Badaniem klinicznym stwierdzano obrzęk i zaczerwienienie błony śluzowej, a także potwierdzaną testem Mirror (MT) suchość błony śluzowej. U pacjentów pojawiły się zmiany o charakterze nadżerek, niekiedy pokryte nalotem włóknikowym. Chorzy skarżyli się na dolegliwości ze strony błony śluzowej – uczucie napięcia, pieczenia, bolesność tworzących się zmian oraz zmniejszone wydzielanie śliny. Wymienione objawy występowały głównie w nocy. Pacjenci zgłaszali również zaburzenia smaku. W 4. tygodniu napromieniowania stan chorych pogarszał się w sposób znaczny i u większości z nich objawy ostrego popromiennego odczynu śluzówkowego prezentowały fazę trzecią, tj. wrzodząco-bakteryjną. Narastające dolegliwości bólowe i kserostomia nie tylko utrudniały spożywanie twardych pokarmów, ale powodowały, że jedzenie stało się niemożliwe. Pacjenci przyjmowali pokarmy tylko w półpłynnej lub płynnej postaci. U większości chorych wdrożono leki przeciwbólowe. Opisane powyżej objawy *oral mucositis* oraz związane z nimi dolegliwości są następstwem bezpośredniego wpływu promieniowania jonizującego, jak również zmniejszonego wydzielania śliny, a także zmian w jej składzie – wzrostu stężenia elektrolitów, wzrostu gęstości, obniżenia pH i spadku stężenia immunoglobuliny typu A. Nie bez znaczenia są nawyki higieniczne pacjentów. Niektórzy autorzy uważają, że nieprzestrzeganie higieny jamy ustnej związane jest z depresją wynikającą z rozpoznania choroby nowotworowej, a także dołączających się dolegliwości ze strony błony śluzowej [5, 24, 41, 65, 106].

Proces gojenia zazwyczaj doprowadza do odbudowy nabłonka oraz przywraca fizjologiczną mikroflorę jamy ustnej. Według danych z piśmiennictwa – u około 20–30% pacjentów dochodzi do powstania zmian przewlekłych – hiperplazji i dysplazji nabłonka oraz zaniku gruczołów ślinowych [83, 126].

Czynnościowym następstwem ostrego odczynu popromiennego są zaburzenia żucia i połykania oraz suchość błon śluzowych.

Suchość jamy ustnej (kserostomia, *dry mouth*) – jeden z najpoważniejszych skutków ubocznych radioterapii – jest spowodowana zaburzeniami wydzielania śliny przez gruczoły ślinowe [3, 67, 112, 118]. Związane jest to z uszkadzającym działaniem promieniowania jonizacyjnego (zależy również od zastosowanej dawki promieniowania [27, 56, 120]) na nabłonek wydzielniczy ślinianek, co powoduje, iż gruczoły te ulegają nieodwracalnym zmianom. Stopniowo następuje ich zwłóknienie i zanik. Pacjenci napromieniowani w rejonie głowy i szyi produkują mało śliny lub nie wytwarzają jej wcale [23, 32, 43, 146, 158].

Badania własne potwierdziły, iż po zastosowaniu napromieniowania funkcja ślinianek zostaje zaburzona i pojawia się problem z produkcją śliny przez gruczoły ślinowe. W trakcie prowadzonych badań kontrolnych, po zakończonej radioterapii, zaobserwowano utrzymującą się suchość błony śluzowej. Kserostomii towarzyszył ból, zaburzenia smaku oraz utrudnione przyjmowanie pokarmów, a także trudności w mowie i utrzym-

maniu ruchomych uzupełnień protetycznych u pacjentów, którzy użytkowali wcześniej protezy.

U chorych napromienianych występuje zwiększona podatność błony śluzowej na zakażenia oraz wzrasta skłonność do próchnicy [39, 64, 73, 78]. Próchnica popromienna ma zazwyczaj ostry przebieg. Związana jest głównie ze zmniejszeniem wydzielania śliny, a także z działaniem promieniowania jonizującego na tkanki zęba. W badaniach opublikowanych w 2003 roku [161] opisano, iż u pacjentów z nowotworami w obrębie głowy i szyi po zakończeniu radioterapii wzrasta poziom *Lactobacillus* oraz *Streptococcus mitis*, natomiast wcześniejsze doniesienia [69, 74, 96] podają, że rozwój „próchnicy radiacyjnej” obserwuje się u 89% chorych.

Leczenie promieniami jonizującymi powoduje również widoczne zmiany w przyzębiu, które objawiają się przechodzeniem fizjologicznych szczelin dziąsłowych w patologiczne kieszenie dziąsłowe, recesją dziąsła, a także stanem zapalnym z towarzyszącym krwawieniem z brodawek dziąsłowych [128].

Stan błony śluzowej jamy ustnej zależy nie tylko od wysokości dawki całkowitej promieniowania, ale również od stanu uzębienia, stanu przyzębia i błony śluzowej przed rozpoczęciem leczenia. Niezwykle istotne jest, aby każdy pacjent zakwalifikowany do radioterapii miał wykonaną pełną, radykalną sanację jamy ustnej w celu eliminacji potencjalnych ognisk zakażenia, za które się uważa:

- zęby z miazgą martwą lub w rozpadzie zgorzelinowym;
- zęby z miazgą zмумifikowaną w kanałach (po leczeniu metodą amputacyjną i amputacyjno-ekstirpacyjną);
- zęby bezmiazgowe (z kanałami niewypełnionymi do szczytu lub wypełnione prawidłowo, lecz zainfekowane w odgałęzieniach kanału);
- przewlekłe procesy zapalne w okolicy przyszczytowej korzeni zębów nieleczonych i leczonych;
- stany po nieprawidłowo wykonanej resekcji szczytu korzenia zęba;
- torbiele korzeniowe i zawiązkowe;
- stany zapalne kości i pozostawione korzenie (*radix relicta*);
- zęby zatrzymane;
- patologiczne kieszenie przyzębne w przebiegu periodontopatii i ropnie przyzębne;
- procesy zapalne w przebiegu utrudnionego wyrzynania zębów;
- ciała obce (złamane narzędzia).

Badania własne potwierdziły cytowane wcześniej dane z piśmiennictwa. U osób, u których nie dokonano całkowitej sanacji jamy ustnej, w zębach z głęboką próchnicą, które przed radioterapią nie zostały zaopatrzone nawet opatrunkiem tymczasowym, wystąpiły kliniczne objawy nieodwracalnego zapalenia miazgi. U pacjentów z nieleczonym wcześniej zapaleniem dziąsła i utrzymujących niedostateczną higienę jamy ustnej zaobserwowano nasilenie objawów periodontopatii, spowodowane odkładaniem złogów nazębnych. U pacjentki z istniejącą periodontopatią w stopniu zaawansowanym w trakcie trwania radioterapii wystąpiło obfite krwawienie dziąsła, które trudno było zatamować. Utrzymująca się kserostomia, brak dostatecznej higieny jamy ustnej oraz obecność bakterii *Lactobacillus* wywołały u części badanych rozwój próchnicy radiacyjnej kilka miesięcy po zakończeniu leczenia promieniami jonizującymi. U chorych tych wystąpiły charakterystyczne dla tej grupy pacjentów zmiany w zabarwieniu zębów. Zarówno szkliwo, jak i zębina uległy przebarwieniu na kolor ciemnobrązowy,

wykazując cechy demineralizacji. U osób nieprzestrzegających higieny, niedbających o leczenie zachowawcze uzębienia, zmiany rozwijały się stopniowo, doprowadzając w efekcie do całkowitego odłamania koron istniejących zębów, często w okolicy przysszyjkowej.

Dane z piśmiennictwa dotyczące flory bakteryjnej u pacjentów w trakcie radioterapii są bardzo sporadyczne. Wiadome jest, iż *Streptococcus mitis*, *S. salivarius* i *Lactobacillus* odgrywają główną rolę po radioterapii [108]. H. Sakamoto (1999 r.) opisał występowanie *Streptococcus* (*S. intermedius*, *S. constellatus*, *S. oralis*, *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*) i bakterii tlenowych (*Enterococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*) w węzłach chłonnych u pacjentów z rakiem jamy ustnej. Wśród bakterii beztlenowych *Peptostreptococcus* został wyizolowany u 12 z 30 przebadanych pacjentów [37].

W badaniach własnych pobrany od pacjentów materiał biologiczny posłużył do przeprowadzenia badań bakteriologicznych, zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami w bakteriologii. Najliczniej pojawiającą się w hodowli bakterią był *Streptococcus viridans* – paciorkowiec z grupy D. Jest to bakteria, która kolonizuje jamę ustną jako składnik mikroflory fizjologicznej. Jednak, mimo niskiego potencjału chorobotwórczego, może stanowić tzw. florę oportunistyczną, powodując wiele zakażeń, zwłaszcza u osób z obniżoną odpornością oraz chorobą nowotworową. Bakteria ta jest składnikiem płytki nazębnej nad- i poddziąsłowej, sprzyja powstawaniu próchnicy. U części badanych pacjentów przyczyniła się do rozwoju próchnicy radiacyjnej.

Występujące również licznie bakterie z grupy *Neisseria* to drobnoustroje Gram (–). Mogą one wywoływać zakażenia błon śluzowych, będące efektem zaburzenia homeostazy między mikroflorą oportunistyczną a mechanizmami odpornościowymi, zwłaszcza u pacjentów po chemio- i radioterapii.

Staphylococcus aureus, który kolonizuje nosogardziel i w dużych ilościach znajduje się w ślinie zdrowych osób, izolowany jest w 22% z poddziąsłowych płytek nazębnych. U chorych z zaburzeniami układu odpornościowego, a także u pacjentów użytkujących ruchome uzupełnienia protetyczne, wywołuje schorzenia błony śluzowej jamy ustnej – języka, warg, kątów ust.

Pseudomonas aeruginosa (pałeczka ropy błękitnej) to bakteria, która często atakuje ludzi przewlekłe chorych i takich, u których leczenie szpitalne trwa długo. Bakteria ta może stać się niezwykle groźna, kiedy występuje u osób z obniżoną odpornością. Na początku 2009 roku zakażenie pałeczką ropy błękitnej spowodowało śmierć młodej, zdrowej modelki z Brazylii, gdyż rozpoznano i wyhodowano tę bakterię zbyt późno. Nawet amputacja obu rąk i obu stóp nie zatrzymała szerzącej się posocznicy [68].

Wyhodowany od pacjentów *Pseudomonas aeruginosa* i obfity wzrost bakterii z grupy *Streptococcus viridans* spowodowały uogólniony stan zapalny jamy ustnej, manifestujący się dużymi zmianami o charakterze nadżerek i owrzodzeń, do których dołączyło się zapalenie kątów ust. Pacjenci ci mieli bardzo duże dolegliwości bólowe, byli w złej kondycji psychicznej i fizycznej. U jednego z nich konieczne było włączenie odżywiania pozajelitowego.

W trakcie leczenia napromienianiem w badaniu bakteriologicznym obserwowano również wzrost bakterii *Gemella morbillorum*. Bakteria ta, będąca florą fizjologiczną w przewodzie pokarmowym człowieka, staje się chorobotwórcza, jeśli zostaje zaburzona równowaga pomiędzy mikroflorą jamy ustnej a organizmem. Wyhodowanie opisanych powyżej szczepów bakteryjnych w tej grupie pacjentów powodowało nasilenie

zmian zapalnych w jamie ustnej, występowanie nadżerek i owrzodzeń oraz utrudniało leczenie.

Podsumowując, bakterie, które u osób zdrowych stanowią mikroflorę fizjologiczną, w grupie pacjentów z chorobą nowotworową, po przebytej radioterapii, powodują występowanie zmian patologicznych nie tylko na błonie śluzowej jamy ustnej, lecz również uszkadzają twarde tkanki zęba (szkliwa, zębiny), sprzyjając rozwojowi próchnicy radiacyjnej. Tworzą również dogodne warunki do pogłębiania objawów periodontopatii.

Znaczenia drożdżopodobnych grzybów z rodzaju *Candida* w ontocenozie jamy ustnej jednoznacznie nie wyjaśniono. Część autorów uważa je za saprofity bytujące w tym rejonie na zasadzie komensalizmu [129]. Inni uznają te grzyby za patogeny będące punktem wyjścia do grzybic wieloogniskowych różnych narządów, w tym jamy ustnej. Według Kurnatowskiej [91, 92] grzyby drożdżopodobne, głównie z rodzaju *Candida*, mogą przez wszystkie okresy życia człowieka wchodzić w skład ontocenozy narządowych, lecz w żadnej z nich nie można ich uznać za tzw. składnik mikroflory fizjologicznej.

Spośród grzybów drożdżopodobnych izolowanych z jamy ustnej *Candida albicans* występuje najliczniej. Gatunek ten jest najważniejszym patogenem kandydozy. Mniej powszechnymi gatunkami są: *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* i inne. Właściwości patogenne *Candida albicans* ujawniają się poprzez zmienność morfologiczną i antygenową, zdolność adhezji do nabłonka i śródbłonka naczyń, produkcji enzymów hydrolitycznych oraz działalność immunomodulacyjną.

W praktyce klinicznej u osób dorosłych najczęściej w jamie ustnej obserwuje się kandydozę ostrą atroficzną (*candidiasis acuta atrophica*), ostrą rzekomobłoniastą (*candidiasis pseudomembranacea acuta*), a także kandydozę przewlekłą zanikową (*candidiasis chronica atrophica*). Kandydoza w formie atroficznej – rumieniowej to ostro odgraniczona, bolesna zmiana charakteryzująca się czerwonym zabarwieniem i rozlanym zanikiem brodawek nitkowatych na grzbiecie języka.

Zmiany mogą również występować na podniebieniu twardym lub dotyczyć obu tych rejonów. Kandydoza rzekomobłoniasta ostra to białawe lub żółtawe, miękkie kożuchowate wykwity o wyglądzie zsiadłego mleka, które po zdjęciu z powierzchni błony śluzowej pozostawiają czerwone, krwawiące podłoże. Łatwo można je wykryć w rutynowym badaniu jamy ustnej i zazwyczaj są otoczone zdrową błoną śluzową. Proces chorobowy może obejmować całą jamę ustną, a każda pseudobłona zawiera poplątane masy pseudostrzępek z pączkującymi komórkami drożdży, złuszczonymi komórkami nabłonka oraz resztkami rozpadłych tkanek. Najczęściej objawom grzybicy jamy ustnej towarzyszy suchość i pieczenie błony śluzowej, a pacjenci skarżą się na zaburzenia smaku i utratę apetytu.

Czynnikami miejscowymi predysponującymi do wystąpienia kandydozy są przede wszystkim: zła higiena jamy ustnej, zmniejszone wydzielanie śliny, użytkowanie rozległych protez zębowych [100], długotrwałe stany zapalne błony śluzowej, mikrourazy oraz ubytki próchnicowe.

Przy bogatej wiedzy mikologicznej ciągle zbyt mało miejsca poświęca się grzybom jako potencjalnym sprawcom szeregu schorzeń pochodzenia endogennego i egzogenego, zwłaszcza u pacjentów długotrwałe hospitalizowanych, z tzw. grup ryzyka, z naruszoną równowagą biologiczną i defektami układu immunologicznego. Kandydoza jamy ustnej [21, 138] jest istotnym zagadnieniem klinicznym. Staje się ona problemem

szczególnie w przypadku chorych leczonych promieniami jonizującymi. Dreizen [41] zaobserwował, że charakterystyczną infekcją błon śluzowych występującą podczas radioterapii nowotworów głowy i szyi są grzybice. Z kolei Lockhart i współpracownicy [99] zauważyli, że zaburzenia ogólnoustrojowe spowodowane głównie chorobą nowotworową, napromienianiem, antybiotykoterapią, chorobami ogólnoustrojowymi stwarzają warunki do rozwoju *Candida albicans* i innych rzadziej występujących patogenów grzybiczych. W piśmiennictwie polskim doniesienia Stryjskiego i Borysewicz-Lewickiej [158] oraz Krajewskiej-Kułąk i współpracowników [88] potwierdzają występowanie szczepów *C. albicans* izolowanych z jamy ustnej pacjentów ze schorzeniami nowotworowymi. Metody stosowane w procesie leczenia tej grupy pacjentów (szczególnie radioterapia i/lub chemioterapia) zaburzają prawidłowe funkcjonowanie układu immunologicznego i krwiotwórczego, co w sposób negatywny wpływa na stan zdrowia jamy ustnej. Kandydoza jamy ustnej występująca w przebiegu radioterapii ma najczęściej charakter ostry.

Ogniska grzybicy w jamie ustnej mogą być źródłem dalszej inwazji i w efekcie doprowadzić do kandydozy wieloogniskowej, jak również do grzybicy nawracającej innych narządów [53, 91]. W piśmiennictwie spotyka się zwykle opis postaci klinicznych grzybicy, brak jest natomiast doniesień na temat zależności między występowaniem grzybów w środowisku jamy ustnej i ich wpływu na objawy kliniczne, zmiany patologiczne na błonie śluzowej jamy ustnej.

W badaniach własnych przeprowadzanych u napromieniowanych pacjentów, wraz z pojawieniem się grzybów w jamie ustnej badanych, wzmagają się dolegliwości ze strony błony śluzowej (uczucie napięcia, pieczenia) i brak śliny, zwłaszcza w nocy. W trakcie kontynuowania radioterapii stan chorych pogarsza się i u większości z nich obserwuje się objawy grzybicy w jamie ustnej, współistniejące objawy zapalenia błony śluzowej (*oral mucositis*) z towarzyszącymi nadżerkami i owrzodzeniami. Narastające dolegliwości bólowe i kserostomia nie tylko utrudniają spożywanie twardych pokarmów, ale powodują, że jedzenie staje się niemożliwe.

Wyniki przeprowadzonych badań genetycznych dowodzą, że niezależnie u jednego pacjenta może rozwinąć się zakażenie wieloma szczepami równocześnie. Pojawiające się po leczeniu ponowne zakażenie spowodowane jest obecnością innych szczepów. Zakażenia pacjentów nie wskazują na wspólne ich źródło i stanowią odzwierciedlenie typowej dla środowiska zmienności występujących szczepów *Candida*.

W opisywanej grupie chorych niezwykle istotne wydaje się eliminowanie kandydozy. Objawy grzybicy nasilają i wystrzają dolegliwości związane z zapaleniem błony śluzowej jamy ustnej (*oral mucositis*) oraz znacznie pogarszają jakość życia pacjentów. Dolegliwości bólowe, pieczenie i uczucie napięcia błony śluzowej, zaburzenia smaku bardzo utrudniają ogólne funkcjonowanie. Dołączająca się suchość w jamie ustnej powoduje, że chorzy ci mają problemy nie tylko z jedzeniem, z utrzymaniem protez zębowych, ale również z mówieniem, gdyż język przykleja się do podniebienia i bardzo trudne staje się wyartykułowanie dźwięków. Eliminacja czynników patologicznych w znacznym stopniu poprawia samopoczucie i komfort pacjentów. W tym miejscu należy zaznaczyć, iż odczuwanie dolegliwości bólowych jest indywidualne i zależy od cech osobowościowych i charakteru pacjenta. W badanej grupie chorych byli tacy, u których wzrost hodowanych grzybów określano jako bardzo obfity, błona śluzowa jamy ustnej wykazywała cechy zapalenia II° bądź III°, a ich samopoczucie było dobre – optymistycznie odnosili się do stosowanej terapii i dobrze ją tolerowali.

Kolejnym problemem pacjentów w trakcie napromieniowania jest – występujący na skórze – odczyn popromienny. Już w kilka godzin po ekspozycji na typową dawkę dzienną stosowaną w radioterapii w obrębie skóry może dojść do wystąpienia rumienia zapalnego. Uraz popromienny powoduje rozszerzenie oraz zwiększenie przepuszczalności naczyń krwionośnych. Zmiany te są wynikiem oddziaływania na naczynia cytokin, histaminy i prostaglandyn (PGI2 i PGE2). Skóra poddawana radioterapii pod wpływem promieniowania jonizującego ulega uszkodzeniu, które zwiększa się w miarę narastania dawki promieniowania. Początkowo powierzchnia skóry staje się czerwona, złuszcza na sucho, a w miarę nasilania się uszkodzeń powstają powierzchnie sącące, które mogą ulec zakażeniu.

U wszystkich pacjentów objętych programem badawczym do dolegliwości ze strony błony śluzowej jamy ustnej dołączały się również dolegliwości związane z objawami ostrego skórniego odczynu popromiennego na skórze szyi, sięgającego do płatków usznych i obejmującego górną część klatki piersiowej. Często towarzyszyły mu postępujące objawy złuszczenia naskórka.

W podsumowaniu można zatem stwierdzić, że ustalenie algorytmu stomatologicznego leczenia wspomagającego – z uwagi na mnogość objawów ubocznych w przebiegu radioterapii chorych na raka narządów głowy i szyi – może stać się ważnym krokiem w kierunku realizacji wytycznych Światowej Federacji Dentystycznej (FDI) w sprawie szczególnego znaczenia opieki dentystycznej nad pacjentem dotkniętym chorobą nowotworową.

ROZDZIAŁ 6. ALGORYTM STOMATOLOGICZNEGO LECZENIA WSPOMAGAJĄCEGO

Leczenie dolegliwości jamy ustnej, które są skutkiem trwającego lub zakończonego stosowania promieni jonizacyjnych, winno być zaplanowane i prowadzone indywidualnie dla każdego pacjenta. Należy uwzględnić, że chorzy, u których zastosowano radio- i/lub chemioterapię to osoby z obniżoną odpornością i zwykle w złej kondycji psychofizycznej. Leczenie pacjentów zakwalifikowanych do projektu badawczego przeprowadzano według schematu zamieszczonego na stronie 29.

W doniesieniach zagranicznych zwraca się uwagę na opiekę dentystyczną i odpowiednie przygotowanie pacjenta przed rozpoczęciem leczenia promieniami jonizacyjnymi, natomiast z obserwacji własnych wynika, że wielu chorych zgłasza się do radioterapii bez wykonanej sanacji jamy ustnej, co nasila występowanie skutków ubocznych i wzmacnia u nich dolegliwości bólowe.

Zapalenie błony śluzowej jamy ustnej (*oral mucositis*) następuje stosunkowo szybko, bo już pod koniec 1. tygodnia napromieniania. Badaniem klinicznym stwierdza się obrzęk i zaczerwienienie błony śluzowej. Stosowany miejscowo chlorowodorek benzydaminu w formie płynu do płukania jamy ustnej lub w formie aerozolu – działa przeciwpalnie i przeciwbólowo (znieczulająco), a także odkażająco. W trakcie radioterapii dochodziło do rozwoju wtórnych infekcji, czemu często towarzyszył silny ból, który utrudniał przyjmowanie pokarmów i płynów. U pacjentów w jamie ustnej stwierdzano zmiany na błonie śluzowej o charakterze nadżerek i owrzodzeń. Najbardziej nasilone zmiany występowały w obszarach błony śluzowej ruchomej, nierogowaciejącej – na policzkach, podniebieniu miękkim, w części śluzowej warg oraz w dnie jamy ustnej. Równocześnie obserwowano zmniejszone wydzielanie śliny objawiające się suchością w jamie ustnej.

Wszystkich pacjentów motywowano do utrzymywania higieny jamy ustnej poprzez prawidłowe szczotkowanie zębów oraz stosowanie płynów do płukania jamy ustnej. Chlorheksydynę – syntetyczny antyseptyk, działający na bakterie Gram (+) i Gram (–), będący aktywnym składnikiem płukanek doustnych – stosowano w stężeniu 0,1%, gdyż roztwór o wyższym stężeniu drażni błonę śluzową jamy ustnej, powodując pieczenie, zwłaszcza u tych osób, u których jej stan oceniano jako II° lub wyższy w skali WHO. Stosowano również Solcoseryl – *dental adhesive paste* oraz wit. A + D₃ liq. w celu pobudzenia błony śluzowej jamy ustnej do wzrostu i regeneracji. U chorych, których stan błony śluzowej wg skali WHO oceniono jako III°, stosowano żele lub aerozole znieczulające, które nieznacznie i często na krótko przerywały ból i pieczenie błony śluzowej.

W niektórych przypadkach chorzy z tego powodu wymagali podawania narkotycznych leków przeciwbólowych.

W grupie chorych, u których w hodowli stwierdzono występowanie bakteryjnych szczepów patogennych, wdrażano leczenie antybakteryjne. Stosowano terapię systemową opartą na wykonanym podczas badania bakteriologicznego antybiogramie, podając antybiotyk wrażliwy na dany szczep.

Dużym problemem terapeutycznym jest występująca podczas stosowanej radioterapii i utrzymująca się po jej zakończeniu suchość w jamie ustnej. W badanej grupie pacjentów nie stosowano, ze względów ekonomicznych, lubrykantów ani substytutów śliny, natomiast zalecano częste popijanie niegazowanej wody mineralnej, napojów bez cukru, a także ssanie kostek lodu.

Na podstawie analizy wyników badań przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy można zaproponować algorytm stomatologicznego leczenia wspomagającego w przebiegu radioterapii chorych na raka regionu głowy i szyi według następującego podziału:

Okres I – przed rozpoczęciem radioterapii

- konsultacja onkologiczno-stomatologiczna;
- eliminacja zębopochodnych, potencjalnie czynnych ognisk zakażenia;
- usunięcie ognisk próchnicy czynnej i wtórnej oraz wykonanie wypełnień stomatologicznych;
- przeprowadzenie profesjonalnych zabiegów higienizacyjnych;
- instruktaż higieny jamy ustnej do stosowania przez pacjenta;
- wyeliminowanie czynników urazowych w odniesieniu do przyzębia i tkanek miękkich jamy ustnej oraz uzupełnień protetycznych;
- zalecenie odpowiedniej diety.

Okres II – w trakcie radioterapii

- dalsza współpraca onkologiczno-stomatologiczna;
- stosowanie preparatów łagodzących objawy *oral mucositis*;
- leczenie zmian miejscowych na błonie śluzowej jamy ustnej poprzez wdrożenie leczenia przeciwgrzybiczego i/lub leczenia antybakteryjnego;
- eliminacja lub łagodzenie objawów kserostomii;
- motywacja pacjenta do przestrzegania higieny jamy ustnej.

Okres III – po zakończeniu radioterapii

- kontynuacja współpracy z pacjentem;
- motywacja do utrzymania właściwej higieny jamy ustnej;
- eliminacja istniejących skutków ubocznych leczenia promieniami jonizacyjnymi (kserostomia, kandydoza, zakażenia bakteryjne) poprzez kontynuację leczenia celowanego.

W oparciu o powyższe można sformułować następujące wytyczne dla onkologiczno-stomatologicznej praktyki klinicznej:

1. Przed rozpoczęciem i w czasie radioterapii konieczna jest ścisła współpraca lekarza stomatologa z lekarzem onkologiem.
2. Chory zakwalifikowany do radioterapii powinien mieć przed jej rozpoczęciem wykonaną sanację jamy ustnej w celu wykluczenia potencjalnie czynnych ognisk zakażenia.
3. U pacjenta poddanego radioterapii należy – w 2., a potem w 4. tygodniu jej trwania – wykonać kontrolne badanie stomatologiczne stanu jamy ustnej oraz badanie mikrobiologiczne (bakteriologiczne i mikologiczne) w celu określenia rodzaju patologicznej mikroflory i zastosowania terapii celowanej.
4. Leczenie miejscowe zmian w jamie ustnej należy przeprowadzać zgodnie z wykonanym antybiogramem i mykogramem.
5. W razie braku poprawy i utrzymujących się objawów kandydozy, należy – oprócz leczenia miejscowego – wdrożyć przeciwgrzybicze leczenie systemowe.
6. Istotne jest przestrzeganie przez pacjenta higieny jamy ustnej – prawidłowego szczotkowanie zębów z zastosowaniem płukanek antybakteryjnych i preparatów fluorowych.
7. W celu złagodzenia objawów zapalnych i dolegliwości bólowych zaleca się ponadto stosowanie preparatów pobudzających do regeneracji i osłaniających błonę śluzową (Solcoseryl, wit. A + D₃ liq., siemię lniane), płukanek zawierających 0,1% roztwór chlorheksydyny oraz chlorowodorek benzydaminu, a w szczególnych przypadkach – żeli lub aerozoli znieczulających.

ROZDZIAŁ 7. WNIOSKI

Na podstawie uzyskanych wyników badań własnych i dotychczasowego stanu wiedzy w tym zakresie można sformułować wnioski natury ogólnej wraz z wytycznymi dla praktyki klinicznej w odniesieniu do onkologiczno-stomatologicznego postępowania w grupie chorych leczonych metodą radioterapii z powodu nowotworów rejonu głowy i szyi.

1. Zastosowanie radioterapii powoduje skutki uboczne, wpływające niekorzystnie na stan jamy ustnej pacjentów, tj. zapalenie błony śluzowej (*oral mucositis*), występowanie nadżerek oraz owrzodzeń.
2. Równocześnie wzrasta poziom grzybów drożdżopodobnych i rozwija się kandydoza.
3. Powstaniu zmian zapalnych błony śluzowej, próchnicy radiacyjnej i pogorszeniu stanu przyzębia sprzyja wzrost flory bakteryjnej (*Gemella morbillorum*, *Streptococcus viridans* i *Staphylococcus aureus*) oraz dołączająca się kserostomia, co stwierdzono badaniem w trakcie radioterapii.
4. Po zakończeniu radioterapii u większości pacjentów te zmiany ulegają wygojeniu.
5. Stan błony śluzowej jamy ustnej zależy nie tylko od wysokości dawki całkowitej naświetlania i ilości frakcji, ale również od stanu uzębienia, stanu przyzębia i błony śluzowej przed rozpoczęciem leczenia.
6. Zakażenia bakteryjne i grzybicze, nasilające ostry odczyn popromienny w zakresie błon śluzowych narządów głowy i szyi, wymagają profilaktyki i leczenia stomatologicznego.
7. Uzyskane wyniki upoważniają do przyjęcia przedstawionego w rozdziale 6 algorytmu postępowania stomatologicznego zawierającego wytyczne kompleksowego leczenia chorych na raka narządów głowy i szyi poddanych radioterapii.

STRESZCZENIE

Urbanizacja, wydłużenie życia i określony jego styl (obyczaje i nałogi) powodują ciągły wzrost liczby pacjentów ze schorzeniami onkologicznymi. Metody wykorzystywane w ich leczeniu (chirurgia, radioterapia i/lub chemioterapia) powodują niekorzystne skutki uboczne, między innymi zaburzając prawidłowe funkcjonowanie układu immunologicznego i krwiotwórczego, co w sposób negatywny wpływa na stan zdrowia jamy ustnej. W radioterapii nowotworów głowy i szyi dochodzi do zahamowania rozwoju nowotworu lub jego wyleczenia, ale także do powstania odczynów popromiennych w okolicy napromienianej. Najwcześniej pojawia się zapalenie błony śluzowej jamy ustnej (*oral mucositis*). Ostre popromienne zapalenie błony śluzowej jamy ustnej opisywane jest jako ciąg fizjopatologicznych reakcji związanych z czasem trwania napromieniowania i dawką otrzymywaną przez pacjenta. Dochodzi do rozwoju wtórnych infekcji (głównie grzybiczych), czemu często towarzyszy silny ból, który może uniemożliwić przyjmowanie pokarmów i płynów. Najbardziej nasilone zmiany występują w obszarach błony śluzowej ruchomej, nierogowaciejącej – na policzkach, podniebieniu miękkim, w części śluzowej warg oraz w dnie jamy ustnej. Jednym z najpoważniejszych skutków ubocznych radioterapii, trwającym nieraz całymi latami, jest kserostomia, w której następuje ograniczenie wydzielania śliny lub jej brak. W jamie ustnej pojawiają się dolegliwości bólowe, wzrasta podatność na próchnicę, występują trudności w mowie, żuciu i połykaniu, a także trudności w utrzymaniu ruchomych protez zębowych czego następstwem jest zaburzenie odżywiania i znaczne pogorszenie komfortu życia pacjentów.

Pomimo znacznego postępu jaki dokonał się w radioterapii w ostatnich latach, objawy uboczne związane z leczeniem promieniami jonizującymi nadal stanowią istotny problem terapeutyczny z uwagi na wielokierunkowość powikłań. Badania w tym zakresie prowadzone są nie tylko przez lekarzy onkologów, specjalistów radioterapii onkologicznej, ale również genetyków, mikrobiologów, a w ostatnim czasie także lekarzy stomatologów. Dotychczas jednak nie został ustalony schemat profilaktyki i algorytm postępowania stomatologicznego u pacjentów onkologicznych w trakcie trwania i po zastosowaniu radioterapii.

Cel pracy

Celem badań, realizowanych w ramach tej pracy, było uzyskanie udokumentowanej wiedzy dotyczącej stanu klinicznego i zmian mikroflory jamy ustnej pod wpływem radioterapii, stosowanej u chorych na raka narządów głowy i szyi, i na tej podstawie opracowanie wytycznych dla zastosowania miejscowego leczenia stomatologicznego – jako zalecanej procedury wspomagającej w postępowaniu onkologicznym.

Przyjęto założenie, że tak sformułowany cel ogólny pracy wymaga zrealizowania badań klinicznych i laboratoryjnych w zakresie umożliwiającym odpowiedź na następujące pytania szczegółowe:

Jak pod wpływem radioterapii zmienia się stan kliniczny jamy ustnej chorych w stosunku do stanu wyjściowego, tzn. jakie są skutki uboczne napromieniowania nowotworu w odniesieniu do tkanek i okolicznych narządów jamy ustnej?

Czy i w jakim zakresie objawom klinicznym towarzyszą zmiany ilościowe i jakościowe mikroflory jamy ustnej oraz jaka jest wrażliwość szczepów patogennych na antybiotyki i chemioterapeutyki?

Czy uzyskane wyniki postępowania stomatologicznego upoważniają do przyjęcia zaproponowanego algorytmu w kompleksowym leczeniu tej grupy pacjentów?

Metodyka

W metodyce badawczej uwzględniono część kliniczną oraz część laboratoryjną, w tym badania mikrobiologiczne (bakteriologiczne i mikologiczne) oraz badanie genetyczne przy użyciu techniki PCR-fingerprinting.

Do badań klinicznych włączono 82 pacjentów w wieku od 27 do 81 lat, w tym 63 mężczyzn (76,8%) i 19 kobiet (23,2%), leczonych z powodu raka narządów głowy i szyi, zakwalifikowanych do napromieniowania pierwotnego lub pooperacyjnego w Instytucie Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie w Krakowie w latach 2005–2007. Najczęściej występującym nowotworem był rak krtani (*ca laryngis*), który rozpoznano u 43,9% chorych (36 pacjentów), rak migdałka (*ca tonsillae*) – u 15,85% (13 pacjentów) i rak nosowej części gardła (*ca nasopharyngis*) – u 7 chorych. Wśród 82 przebadanych osób 90,2% (74 chorych) – to nałogowi palacze tytoniu (z czego – 23 osoby – palący ponad 20 papierosów dziennie przez okres ponad 30–40 lat), 9,8% to osoby niepalące (8 chorych). 27 osób nadużywało alkoholu (32,9% badanych).

Stan jamy ustnej oceniano na podstawie przeprowadzonego badania przedmiotowego. Ocenie poddano uzębienie pacjentów, stan higieny jamy ustnej, stan tkanek przyzębia oraz zmiany na błonie śluzowej. Stan przyzębia u wszystkich badanych określano za pomocą badania klinicznego i następujących parametrów: wskaźnika krwawienia z kieszonki dziąsłowej (SBI), umożliwiającego ocenę kliniczną stanu przyzębia (podaną w procentach), aproksymalnego wskaźnika płytki (API) wg Langego i współpracowników, umożliwiającego uproszczoną ocenę kliniczną stopnia higieny jamy ustnej (podaną w procentach) oraz pomiaru głębokości kieszeni przyzębnych.

Nasilenie zmian oceniano, posilkując się 5-stopniową skalą WHO. Materiał do badań laboratoryjnych pobierano według cyklu badań klinicznych, tj. przed zastosowaniem radioterapii, w 2. i w 4. tygodniu jej trwania oraz 4–6 tygodni po ukończeniu leczenia promieniami jonizującymi. U wszystkich badanych pobrano wymazy z błony śluzowej policzka prawego oraz popłuczyny jamy ustnej. Pobrany materiał biologiczny służył do przeprowadzenia badań mikrobiologicznych, które obejmowały: hodowlę, izolację i identyfikację poszczególnych szczepów bakteryjnych i grzybiczych według ogólnie przyjętych zasad w bakteriologii i mikologii. Dokonana została ocena ilościowa wzrostu szczepów mikroorganizmów wyizolowanych z materiału klinicznego. Szczegółową charakterystykę poszczególnych drobnoustrojów określano na podstawie oceny wrażliwości na leki oraz właściwości enzymatycznych. W celu identyfikacji bakterii – materiał z jamy ustnej wysiewano bezpośrednio na stałe podłoża agarowe. Lekowrażliwość szczepów bakteryjnych oznaczano metodą dyfuzyjno-krażkową.

W celu identyfikacji grzybów materiał biologiczny posiano na podłoże Sabourauda. Z wymazów jamy ustnej i popłuczyn wykonywano preparaty bezpośrednie barwione metodą Grama w celu oceny form morfologicznych grzybów stwierdzonych w materiale klinicznym. Oceniano ilości grzybów w 1 ml popłuczyn, obfitość grzybów półilościowo wg schematu:

- + pojedyncze kolonie (1–10 kolonii),
- ++ 11–30 kolonii,
- +++ 30–100 kolonii,
- wzrost zlewny – powyżej 100 kolonii.

Wszystkie wyizolowane szczepy identyfikowano zgodnie z metodyką stosowaną w rutynowej diagnostyce mikologicznej. Oceniano zdolność do wytwarzania grzybni i chlamydosporów oraz wykonywano test asymilacji związków węglowych API 20C AUX (firmy bioMerieux). Oznaczenie profilu enzymów hydrolitycznych dokonywano za pomocą testu API ZYM (bioMerieux).

Przy użyciu techniki PCR-fingerprinting (*random amplified polymorphic DNA*, RAPD) oznaczano genotypy poszczególnych szczepów.

Wyniki badań klinicznych i laboratoryjnych zostały zebrane w bazie danych, a następnie opracowane statystycznie przy użyciu programu STATISTICA 7.1 oraz R.

Leczenie pacjentów zakwalifikowanych do projektu badawczego przeprowadzono według ustalonego – na potrzeby tej pracy – schematu. Schemat stanowi własną modyfikację zasad postępowania, stosowanych standardowo w większości ośrodków onkologicznych. U każdego chorego, przed pobraniem materiału do badań laboratoryjnych, przeprowadzano badanie przedmiotowe, a w przypadkach koniecznych wykonano sanację jamy ustnej. Były to przypadki, które należało zaopatrzyć w trybie natychmiastowym. Usunięto zęby z martwą miazgą, ze zmianami okołowierzchołkowymi, także te, w których doszło do zaostrenia procesu chorobowego i nasilenia dolegliwości bólowych, już w trakcie hospitalizacji i po rozpoczęciu radioterapii.

W grupie badanych, u których w hodowli wzrost grzybów drożdżopodobnych był średnio obfity, stosowano miejscowo terapię antymikotyczną. Najczęściej na tym etapie leczenia wdrażano – w oparciu o recepturę stosowaną w Uniwersyteckiej Klinice Stomatologicznej w Krakowie – płukankę i roztwór z nystatyną do pędzlowania jamy ustnej. Jeżeli miejscowa terapia przeciwgrzybicza była nieskuteczna, do eradykacji kolonii grzybiczych włączano celowane leczenie systemowe, oparte na wykonanym podczas badania mikologicznego mykogramie.

W grupie chorych, u których w hodowli stwierdzono występowanie bakteryjnych szczepów patologicznych, wdrażano leczenie antybakteryjne. Stosowano terapię systemową opartą na wykonanym podczas badania bakteriologicznego antybiogramie. Podawano wówczas antybiotyki, na który wrażliwy był dany szczep.

Wyniki badań

Dla 47 z 82 pacjentów radioterapia była leczeniem uzupełniającym wcześniejszy zabieg chirurgiczny. U części z nich pojawiły się dolegliwości subiektywne: uczucie pieczenia, napięcia i suchości w jamie ustnej.

Stan błony śluzowej jamy ustnej określano na podstawie badania przedmiotowego, a nasilenie zmian oceniano w 5-stopniowej skali Mucositis (wg WHO). W badaniu wstępnym – przed radioterapią – u 12 pacjentów (14,63%) stan błony śluzowej jamy ustnej oceniono jako I°, u pozostałych chorych stwierdzono brak jakichkolwiek objawów. W 2. tygodniu leczenia u 17 osób (20,73%) stan błony śluzowej zakwalifikowano jako I°, a u 45 badanych (54,88%) – jako II°. U 20 pacjentów (24,39%) oceniono stan błony śluzowej jamy ustnej na III°. W 4. tygodniu leczenia promieniami jonizującymi stan chorych pogarszał się w sposób znaczny. Narastające dolegliwości bólowe, objawy zapalenia błony śluzowej (*oral mucositis*) z towarzyszącymi nadżerkami i owrzodzeniami, występująca kserostomia utrudniały spożywanie twardych pokarmów i znacznie pogarszały jakość życia. Mimo zastosowanego uzupełniającego leczenia stomatologicznego u 41 chorych (50%) obserwowano III° nasilenia zmian na błonie śluzowej jamy ustnej, 29 pacjentów (35,37%) posiadało w ocenie klinicznej II°, a tylko 12 osób (14,63%) – I°.

Ocenę stanu przyzębia za pomocą wskaźnika API przeprowadzono u 48 osób z grupy badanych. Pozostali pacjenci byli osobami bezzębnymi. W badaniu wstępnym – przed rozpoczęciem leczenia promieniami jonizującymi – wskaźnik API < 25%, oznaczający optymalną higienę jamy ustnej, zanotowano u 3 osób (6,25%) i utrzymywał się on zarówno w 2., jak i w 4. tygodniu terapii. Wskaźnik API o wartości 25–39% – przed rozpoczęciem terapii – stwierdzono u 3 (6,25%), a w 2. i 4. tygodniu u 4 pacjentów (8,33%). Wskaźnik API przedstawiający wartości 40–69% zaobserwowano w badaniu wstępnym u 16 chorych (33,33%), natomiast w 2. i 4. tygodniu radioterapii występował on u 13 badanych (27,08%). Niewłaściwa higiena jamy ustnej została stwierdzona w pierwszym badaniu u 26 osób (54,17%), a zarówno w 2., jak i 4. tygodniu u 28 (58,34%). Wyniki w badaniu kontrolnym były identyczne jak w badaniu wstępnym.

Z pobranego od pacjentów materiału biologicznego wyhodowano różnorodną florę bakteryjną. Dominowały następujące gatunki: *Streptococcus viridans* (izolowany u 73 pacjentów), *Neisseria sp.* (u 41 pacjentów), beztlenowa bakteria *Gemella morbillorum* (u 37 pacjentów), *Staphylococcus aureus* (u 35 pacjentów) oraz *Lactobacillus sp.* (u 10 pacjentów). U 4 pacjentów stwierdzono zakażenie *Pseudomonas aeruginosa* przed rozpoczęciem terapii. Tylko 3 pacjentów nie miało dodatknych posiewów bakteryjnych przed rozpoczęciem radioterapii.

W trakcie leczenia promieniami jonizującymi zaobserwowano stopniowy wzrost intensywności wzrostu *S. viridans* i *P. aeruginosa* (różnica występuje między okresem przed leczeniem a 4. tygodniem leczenia, natomiast brak różnic między okresem przed leczeniem a 2. tygodniem i 2. a 4. tygodniem leczenia w teście *post hoc*). Liczba zakażonych pacjentów bakterią *P. aeruginosa* wzrosła do 6 w 2. tygodniu leczenia i do 8 w 4. tygodniu napromieniowania.

Największy dynamizm przyrostu wykazał *S. aureus*, który w miarę postępu radioterapii był izolowany u coraz większej liczby pacjentów; również zwiększyła się intensywność wzrostu tej bakterii.

W grupie 82 chorych przed rozpoczęciem leczenia nie wyhodowano grzybów u 44 pacjentów (53,66%), u 34 osób (41,47%) wzrost grzybów z rodzaju *Candida* oceniano jako słabo obfity (+) lub średnio obfity (++).

W 2. tygodniu radioterapii u 67,07% pacjentów występowały grzyby drożdżopodobne, a wzrost ich oceniano jako słabo obfity (+), średnio obfity (++) i obfity (+++). Oprócz szczepów *Candida albicans* wyhodowano między innymi *Candida glabrata*, *C. tropicalis* i *C. krusei*. Stan chorych pogorszył się w tym okresie – w 53,7% przypadków (44 osoby) pacjenci skarżyli się na dolegliwości ze strony błony śluzowej jamy ustnej (uczucie napięcia) i brak śliny, zwłaszcza w nocy. Badanie mikologiczne powtarzano pod koniec 4. tygodnia radioterapii. W okresie tym nastąpił wzrost występowania grzybów. W 10,98% przypadków (9 osób) – szczepy grzybów drożdżopodobnych miały wzrost bardzo obfity, zlewny, a w 40,24% przypadków – obfity lub średnio obfity. Jednak nie stwierdzono różnic w teście *post hoc* po analizie Friedmana w intensywności wzrostu grzybów w 2. i 4. tygodniu radioterapii.

Podczas kontynuowania radioterapii stan chorych pogarszał się znacznie i u większości (ponad 80%) pacjentów obserwowano objawy grzybicy jamy ustnej, zapalenia błony śluzowej (*oral mucositis*) z towarzyszącymi nadżerkami i owrzodzeniami.

Oceniono rokowanie w grzybicy jamy ustnej w przypadku pacjentów, u których przed rozpoczęciem badania stwierdzono grzyby w porównaniu z tymi, u których tych grzybów nie stwierdzano. W grupie osób, u których stwierdzano grzyby przed rozpoczęciem radioterapii pogorszenie stanu (zwiększenie obfitości wzrostu flory grzybiczej) nastąpiło u 39% pacjentów, w grupie, w której nie stwierdzano grzybów przed terapią – u 65% pacjentów. Różnice między grupami były istotne statystycznie.

Ocena wrażliwości na leki wykazała, że wszystkie zbadane szczepy były wrażliwe na amfoterycynę B (MIC < 0,5 mg/l) oraz 5-fluorocytozynę (MIC < 0,5 mg/l). Stwierdzono, że wszystkie szczepy poza jednym były wrażliwe na nystatynę.

Narastające dolegliwości bólowe i kserostomia nie tylko utrudniały spożywanie twardych pokarmów, ale powodowały, że jedzenie stawało się niemożliwe. Obserwowano również dolegliwości związane z odczynem popromiennym na skórze szyi.

U wszystkich pacjentów wdrożono leczenie przeciwgrzybicze miejscowe, w ciężkich przypadkach (hodowla grzybów bardzo obfita, zlewna) – również leczenie systemowe.

Algorytm stomatologicznego leczenia wspomagającego

Na podstawie analizy wyników badań przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy można zaproponować algorytm stomatologicznego leczenia wspomagającego w przebiegu radioterapii chorych na raka regionu głowy i szyi według następującego podziału:

Okres I – przed rozpoczęciem radioterapii

- konsultacja onkologiczno-stomatologiczna;
- eliminacja zębopochodnych, potencjalnie czynnych ognisk zakażenia;
- usunięcie ognisk próchnicy czynnej i wtórnej oraz wykonanie wypełnień stomatologicznych;
- przeprowadzenie profesjonalnych zabiegów higienizacyjnych;
- instruktaż higieny jamy ustnej do stosowania przez pacjenta;
- wyeliminowanie czynników urazowych w odniesieniu do przyzębia i tkanek miękkich jamy ustnej oraz uzupełnień protetycznych;
- zalecenie odpowiedniej diety.

Okres II – w trakcie radioterapii

- dalsza współpraca onkologiczno-stomatologiczna;
- stosowanie preparatów łagodzących objawy *oral mucositis*;
- leczenie zmian miejscowych na błonie śluzowej jamy ustnej poprzez wdrożenie leczenia przeciwwgrzybiczego i/lub leczenia antybakteryjnego;
- eliminacja lub łagodzenie objawów kserostomii;
- motywacja pacjenta do przestrzegania higieny jamy ustnej.

Okres III – po zakończeniu radioterapii

- kontynuacja współpracy z pacjentem;
- motywacja do utrzymania właściwej higieny jamy ustnej;
- eliminacja istniejących skutków ubocznych leczenia promieniami jonizacyjnymi (kserostomia, kandydoza, zakażenia bakteryjne) poprzez kontynuację leczenia celowanego.

W wyniku przeprowadzonych badań sformułowano następujące wytyczne dla onkologiczno-stomatologicznej praktyki klinicznej:

1. Przed rozpoczęciem i w czasie radioterapii konieczna jest ścisła współpraca lekarza stomatologa z lekarzem onkologiem.
2. Chory zakwalifikowany do radioterapii powinien mieć przed jej rozpoczęciem wykonaną sanację jamy ustnej w celu wykluczenia potencjalnie czynnych ognisk zakażenia.
3. U pacjenta poddanego radioterapii należy – w 2., a potem w 4. tygodniu jej trwania – wykonać kontrolne badanie stomatologiczne stanu jamy ustnej oraz badanie mikrobiologiczne (bakteriologiczne i mikologiczne) w celu określenia rodzaju patologicznej mikroflory i zastosowania terapii celowanej.
4. Leczenie miejscowe zmian w jamie ustnej należy przeprowadzać zgodnie z wykonanym antybiogramem i mykogramem.

5. W razie braku poprawy i utrzymujących się objawów kandydozy, należy – oprócz leczenia miejscowego – wdrożyć przeciwgrzybicze leczenie systemowe.
6. Istotne jest przestrzeganie przez pacjenta higieny jamy ustnej – prawidłowego szczotkowanie zębów z zastosowaniem płukanek antybakteryjnych i preparatów fluorowych.
7. W celu złagodzenia objawów zapalnych i dolegliwości bólowych, zaleca się ponadto stosowanie preparatów pobudzających do regeneracji i osłaniających błonę śluzową (Solcoseryl, wit. A + D₃ liq., siemię lniane), płukanek zawierających 0,1% roztwór chlorheksydyny oraz chlorowodurek benzydaminu, a w szczególnych przypadkach – żeli lub aerozoli znieczulających.

Wnioski

1. Zastosowanie radioterapii powoduje skutki uboczne, wpływające niekorzystnie na stan jamy ustnej pacjentów, tj. zapalenie błony śluzowej (*oral mucositis*), występowanie nadżerek oraz owrzodzeń.
2. Równocześnie wzrasta poziom grzybów drożdżopodobnych i rozwija się kandydoza.
3. Powstaniu zmian zapalnych błony śluzowej, próchnicy radiacyjnej i pogorszeniu stanu przyzębia sprzyja wzrost flory bakteryjnej (*Gemella morbillorum*, *Streptococcus viridans* i *Staphylococcus aureus*) oraz dołączająca się kserostomia, co stwierdzono badaniem w trakcie radioterapii.
4. Po zakończeniu radioterapii u większości pacjentów te zmiany ulegają wygojeniu.
5. Stan błony śluzowej jamy ustnej zależy nie tylko od wysokości dawki całkowitej naświetlania i ilości frakcji, ale również od stanu uzębienia, stanu przyzębia i błony śluzowej przed rozpoczęciem leczenia.
6. Zakażenia bakteryjne i grzybicze, nasilające ostry odczyn popromienny w zakresie błon śluzowych narządów głowy i szyi, wymagają profilaktyki i leczenia stomatologicznego.
7. Uzyskane wyniki upoważniają do przyjęcia przedstawionego algorytmu postępowania stomatologicznego jako ważnego elementu kompleksowego leczenia chorych na raka narządów głowy i szyi poddanych radioterapii.

SUMMARY

Urbanisation, increasing life expectancy and a specific lifestyle (customs and habits) are leading to a steady rise in patients suffering from oncological diseases. The methods used to treat such patients (surgery, radiotherapy and chemotherapy) have negative side effects, such as disrupting the proper functioning of the immunological and hematopoietic system, which in turn has a negative impact on oral health. Radiotherapy treatment of neoplasms of the head and neck can inhibit the development of the neoplasm or even cure it, but at the same time it can trigger post-radiation reactions in the irradiated area, the earliest of which is oral mucositis. Radiation-induced oral mucositis is a chain of physio-pathological reactions determined by the duration of exposure to radiation and the dose received by the patient. This in turn gives rise to secondary infections (having mainly mycotic character) often accompanied by severe pain, which can make it impossible for the patient to consume food and liquids. The most intense pathological changes appear in areas of the nonattached, nonkeratinised oral mucosa – in the cheeks, the soft palate, in the mucous part of the lips and at the bottom of the oral cavity. One of the most serious side effects of radiotherapy, which sometimes lasts several years, is xerostomy which involves the restriction or cessation of the secretion of saliva. Various complaints affect the oral cavity, including pain, increased proneness to caries, difficulties in speech, chewing and swallowing as well as difficulties in retaining removable dentures, which as a consequence impede eating and significantly impair the patient's quality of life.

In spite of the considerable progress achieved in radiotherapy in recent years, the side effects of ionising radiation treatment still pose a major therapeutic problem on account of the multiple complications involved. Research in this area has been carried out not only by oncologists and specialists in oncological radiotherapy, but also by geneticists, microbiologists and recently by dental physicians. Until now, however, no prophylaxis plan or dental procedural algorithm has been developed for oncological patients both during the course of radiotherapy and in the post-therapy phase.

The aim of the study

The aim of the research carried out in this study was to gain documented knowledge of the clinical status and changes in the microflora of the oral cavity under the influence of radiotherapy administered to patients suffering from cancers affecting the organs of the head and neck, and on this basis prepare guidelines for local dental treatment – as a recommended supportive procedure in oncological treatment.

The assumption adopted in this paper is that such formulated general aim requires carrying out clinical and laboratory research that would enable us to answer the following detailed questions:

How does radiotherapy change the clinical status of the oral cavity in relation to the initial status of the cavity, i.e. what are the side effects of the irradiation of a neoplasm on the tissues and surrounding organs of the oral cavity?

Are clinical symptoms accompanied by quantitative and qualitative changes in the microflora of the oral cavity and to what extent, and how sensitive are pathogenic strains to antibiotics and chemotherapeutic agents?

Do the achieved results of performed dental procedures provide a sufficient authoritative basis for adopting this algorithm for a comprehensive treatment of this group of patients?

Methodology

The research method consisted of a clinical stage and a laboratory stage, including microbiological tests (bacteriological and mycological ones), and genetic research based on PCR-fingerprinting technology.

The study comprised 82 patients, aged from 27 to 81, including 63 men (76.8%) and 19 women (23.2%), receiving treatment for carcinoma of the organs of the head and neck and qualifying for primary or post-operative radiation at the M. Skłodowska-Curie Institute of Oncology in Krakow in 2005–2007. The most common form of neoplasm was cancer of the larynx, diagnosed in 43.9% of the patients (36 patients), followed by cancer of the tonsils – 15.85% of cases (13 patients) and cancer of the nasopharynx – 7 patients. Of the 82 people taking part in the research – 90.2% (74 of the patients) were habitual tobacco smokers (of this number 23 had smoked more than 20 cigarettes a day for a period of more than 30–40 years), 9.8% were non smokers (8 of the patients). 27 persons were heavy alcohol consumers (32.9% of those researched)

The state of the oral cavity was assessed on the basis of a physical examinations of the patient's dentition, oral hygiene, periodontal tissue and changes in the mucous membrane. The state of the periodontium of all those researched was assessed by means of clinical tests and the following parameters: the sulcus bleeding index (SBI) which makes it possible to assess the clinical state of the periodontium (expressed in percentage), the approximal plaque index (API) (according to Lange et al.) which ensures a sim-

plified assessment of the clinical state of hygiene of a patient's oral cavity (expressed in percentage) as well as measurements of the depth of periodontal pockets.

The intensification of pathological changes was assessed using the WHO five-grade scale. Material for the laboratory tests was collected in line with the cycle of the clinical study, i.e. before the administering of radiotherapy, in the second and fourth weeks of the treatment, and 4–6 weeks after the completion of the ionizing radiation treatment. Smear swabs from the mucous membrane of the right cheek and washings of the oral cavity were taken from all the patients. This biological material then underwent microbiological tests which covered the following factors: the culture, isolation and identification of individual bacterial and mycotic strains according to generally adopted principles in bacteriology and mycology. The growth of microorganism strains isolated from the clinical material were then quantitatively assessed. A more detailed profile of individual microorganisms was made on the basis of an evaluation of their drug susceptibility and their enzymatic properties. To identify bacteria, material from the oral cavity was seeded directly on a solid agar medium. The drug susceptibility of bacterial strains was determined using the disc-diffusion method.

To identify the fungi the biological material was seeded on a Sabourauda base. The oral cavity smear swabs and washings were used to make preparations which were directly coloured using the Grama method for the purpose of assessing morphological forms of fungi identified in the clinical material. The amount of fungus in 1 ml of the washings and the profusion of fungus was assessed semi-quantitatively according to the following schema:

- + individual colonies (1 to 10 colonies)
- ++ 11 to 30 colonies
- +++ from 30 to 100 colonies
- abundant growth – above 100 colonies

All the isolated strains were identified according to methods used in routine mycological diagnosis. The strains were assessed for their ability to produce mycelium and chlamydospores and also tested with regard to the assimilation of carbon compounds API 20C AUX (bioMerieux). The profile of hydrolytic enzymes was determined using the API ZYM test (bioMerieux).

Genotypes of individual strains were identified using PCR-fingerprinting (RAPD – Random Amplified Polymorphic DNA) technology.

The results of clinical study and laboratory tests were gathered on data bases and then statistically elaborated using the STATISTICA 7.1 programme and R.

The patients included in the research project were treated according to an scheme established for the needs of this study. The scheme represents a modification of the principles of the procedure applied as standard in the majority of oncological centres. Prior to taking materials for laboratory tests each patient underwent a physical examination and, when necessary, the rehabilitation of their oral cavity was performed. These were cases which required immediate measures. The teeth with necrotic pulp and with periapical lesions were extracted, also teeth in patients already hospitalised and with initiated radiotherapy in cases where the pathology had intensified and pain had increased.

Those patients in the study group whose cultures exhibited medium growth in yeast-like fungi received local anti-mycotic therapy. At this stage of the treatment such therapy mostly involved – based on the formulation used by the University Dental Clinic

in Krakow – a mouthwash and solution with nystatine for swabbing the oral cavity. If the local anti-mycotic therapy proved ineffective, specific systemic treatment based on a mycogramme achieved from mycological tests was introduced.

Those patients whose cultures contained pathological bacterial strains received anti-bacterial treatment. The systemic therapy was based on an antibiogramme achieved from bacteriological tests. In such cases the patient received an antibiotic to which a given strain was sensitive.

Study results

47 of the 82 study patients underwent radiotherapy treatment as a complementary therapy to the earlier surgery. Some of these patients reported subjective symptoms: a burning sensation, constriction or dryness of the oral cavity.

The state of the patient's oral mucosa was determined on the basis of a physical examination and any intensification of pathological changes was evaluated on the 5-grade Mucositis scale (according to WHO). In the preliminary examination – i.e. prior to radiotherapy – the oral mucosa of 12 patients (14.63%) was assessed as grade I, while no symptoms were present in the other patients. In the second week of treatment 17 patients (20.73%) had grade I oral mucosa, and 45 (54.88%) – grade II. The oral mucosa of another 20 patients (24.39%) was grade III. During the fourth week of ionising radiation treatment the status of the patients had deteriorated significantly. Increasing pain, symptoms of oral mucositis with accompanying erosions and ulcerations, appearance of xerostomy impeded consumption of solid food and significantly deteriorated the patients' quality of life. Despite receiving supplementary dental treatment, 41 patients (50%) revealed grade III intensification of pathological changes in the oral mucosa, 29 patients (35.37%) grade II, and only 12 patients (14.63%) were grade I.

The periodontium of 48 patients in the study group was assessed using the API index. The other patients were edentulous. In the preliminary examination, i.e. prior to the commencement of ionising radiation treatment, three patients (6.25%) had an API index of < 25%, signifying optimal hygiene of the oral cavity and remained so in both the second and fourth weeks of therapy. Meanwhile three patients (6.25%) had an API index of 25–39% prior to the commencement of therapy, and this number rose to four (8.33%) in the second and fourth weeks of therapy. 16 patients (33.33%) had an API index of 40–69% in the preliminary examination compared with 13 (27.08%) in the second and fourth weeks of therapy. Poor hygiene was observed in the oral cavities of 26 patients (54.17%), with this figure rising to 28 (58.34%) in both the second and fourth weeks of therapy. The results in the follow-up examination were identical to those in the preliminary examination.

Heterogeneous bacterial flora was cultured from the biological material collected from the patients. The following species predominated – *Streptococcus viridans* (isolated in 73 patients), *Neisseria sp.* (41 patients), anaerobic bacterium *Gemella morbillorum* (in 37 patients), *Staphylococcus aureus* (in 35 patients) and *Lactobacillus sp.* (10 patients). 4 patients were confirmed with an infection of *Pseudomonas aeruginosa*

prior to the commencement of therapy. Only three patients had no positive bacterial cultures prior to the commencement of radiotherapy.

During the course of ionising radiation treatment a gradual increase was observed in the growth of *S. viridans* and *P. aeruginosa* (the difference appears between the pre-treatment stage and the fourth week of treatment, while no differences were observed between the pre-treatment stage and the second week of treatment and between the second week and the fourth week of treatment in the *post hoc test*). The number of patients infected with bacteria *P. aeruginosa* rose to six in the second week of treatment and to 8 in the fourth week.

The most dynamic of the strains was *S. aureus*, which was isolated in more and more patients as the radiotherapy progressed. This bacterium also grew at a faster rate.

No fungi were cultured in 44 (53.66%) of the 82 patients prior to the commencement of treatment. In another 34 patients (41.47%) – the growth in *Candida* fungi was assessed as low (+) or average (++).

During the second week of radiotherapy yeast-like fungi were identified in 67.07% of the patients, with growth determined to be either low (+), moderate (++) or high (+++). Apart from *Candida albicans* strains, *Candida glabrata*, *C. tropicalis* and *C. krusei* were also cultured, among others. The status of the patients during this period deteriorated – 53.7% of the patients (44 persons) complained of problems in the oral mucosa (a burning sensation) as well as of a lack of saliva, especially at night. The microbiological tests were repeated at the end of the fourth week of radiotherapy. Fungi presence increased during this period. In 10.98% of cases (9 persons) – the growth of strains of yeast-like fungi was very profuse, fusing, and in 40.24% of cases it was profuse or moderately profuse. On the other hand, no differences were observed in a *post hoc* Friedman analysis of the intensity of the growth of fungi in the second and fourth weeks of radiotherapy.

As the therapy progressed, the health of the patients deteriorated significantly and the majority (more than 80%) exhibited symptoms of mycosis of the oral cavity or oral mucositis combined with erosions and ulcerations.

Prognoses of oral mycosis were made in the case of patients in whom fungi were detected prior to the commencement of the research in comparison with those in whom fungi were identified after the commencement of the treatment. In the case of those patients in whom fungi were identified prior to the commencement of radiotherapy, 39% showed signs of deterioration (increased proliferation of mycotic flora) while in the case of those with no identified fungus before therapy the corresponding percentage was 65%. Differences between the groups were statistically significant.

Assessment of drug susceptibility showed that all researched strains were sensitive to Amphotericin B (MIC < 0.5 mg/l) and 5-fluorocytosine (MIC < 0.5 mg/l). All the strains apart from one were sensitive to nystatine.

During the course of the radiotherapy, as the health status of the patients deteriorated significantly, the majority of the patients (more than 80%) exhibited symptoms of oral mycosis as well as symptoms of oral mucositis with accompanying erosions and ulcerations. Increasing pain and xerostomy not only impeded the consumption of solid food, but also made eating impossible. Complications arising from post-radiation reactions on the skin of the neck were also observed.

All patients received local antimycotic treatment and more serious cases (very profuse culture of bacteria, fusing) also received systemic treatment.

Algorithm of supportive dental treatment

Based on an analysis of the results of research carried out within the framework of the present study the author proposes a dental treatment algorithm supporting the radiotherapy treatment of patients with carcinoma in the region of the head or neck, according to the following division:

Period I – prior to the commencement of radiotherapy

- Oncological and dental consultation;
- Elimination of dental-originated potentially active dental foci;
- Removal of active and secondary caries foci and with subsequent fillings;
- Professional hygiene procedures;
- Instruction in oral cavity hygiene to be applied by the patient;
- Elimination of traumatic factors in relation to the periodontium and soft tissue of the oral cavity and any prosthetic restorations;
- Recommendations regarding correct diet.

Period II – during the course of radiotherapy

- Further dental-oncological collaboration;
- Use of preparations designed to alleviate the symptoms of *oral mucositis*;
- Treatment of local lesions in the oral mucosa through the implementation of mycological treatment and/or anti-bacterial treatment;
- Elimination or alleviation of the symptoms of xerostomy;
- Motivating patient to observe oral hygiene regimen.

Period III – on conclusion of radiotherapy

- Continued co-operation with patient;
- Motivating patient to maintain correct oral hygiene;
- Elimination of existing side effects of ionising radiation treatment (xerostomy, candidosa, bacterial infections) through continued specific treatment.

The research provided the basis for the following guidelines for oncological-dental clinical practice:

1. Prior to the commencement of and during the course of radiotherapy the dental physician must collaborate very closely with the oncologist.
2. Patients qualifying for radiotherapy should, prior to the commencement of treatment, have their oral cavities rehabilitated so as to exclude any potentially active infection foci.
3. In the case of patients undergoing radiotherapy it is important – in the second and then in the fourth week of the treatment – to make a control dental examination of the oral cavity and carry out microbiological tests (bacteriological and myco-

logical ones) with the aim of identifying the pathological type of microflora and using specific therapy.

4. Local treatment of pathological changes in the oral cavity should be carried out based on an earlier antibiogramme and mycogramme
5. If the symptoms of candidosa show no signs of improvement and continue to persist, local treatment should be supplemented by systemic antimycotic therapy.
6. It is important for the patient to observe oral hygiene rules – correct brushing of teeth combined with an antibacterial mouthwash and fluoride preparations.
7. To mitigate symptoms of pain and inflammation preparations should be used that regenerate and protect the mucous membrane (Solcoseryl, Vit. A + D₃ liq., linseed), together with a mouthwash containing a 0.1% solution of chlorhexidine and benzydamine hydrochloride, and, in particular cases, anaesthetising gels and aerosols.

Conclusions

1. The use of radiotherapy causes side effects and has an adverse effect on the oral cavity of patients, i.e. in the form of oral mucositis and the appearance of erosions and ulcerations.
2. Simultaneously, yeast-like fungi grow and candidosa develops.
3. The appearance of inflammatory changes in the mucous membrane, “radiation caries” and the deterioration of periodontium is favoured by the growth of bacterial flora (*Gemella morbillorum*, *Streptococcus viridans* and *Staphylococcus aureus*) and accompanying xerostomy – which was confirmed by tests during the course of radiotherapy.
4. These pathological changes healed in the majority of patients after the completion of the therapy.
5. The status of the oral mucosa depends not only on the total dose of radiation and the number of fractions, but also on the state of dentition, periodontium and mucous membrane prior to the commencement of the treatment.
6. Bacterial and mycotic infections which intensify acute radiation reactions in the area of mucous membrane of the head and the neck require prophylaxis and dental treatment.
7. The results allow for the use of a dental procedure scheme as an important element in the comprehensive treatment of patients with carcinomas of the organs of the head and neck who are undergoing radiotherapy.

PIŚMIENICTWO

- [1] Aleksander M.: Microbial Ecology. John Wiley and Sons Ins. New York, 1971.
- [2] Almstahl A., Wikström M.: Oral microflora in subjects with reduced salivary secretion. J. Dent. Res., 1999, 78, 8, 1410–1416.
- [3] Al-Nawas B., Al-Nawas K., Kunkel M., Grötz K.A.: Quantifying radioxerostomia: Salivary Flow Rate, Examiner's score and quality of life Questionnaire. Strahlenther Onkol. 2006, 182, 336–341.
- [4] Annals of Oncology (Official Journal of the European Society for Medical Oncology) 2003, 14, Supl. 5.
- [5] Arcuri M.R., Schneider R.L.: The physiological effects of radiotherapy on oral tissue. J. Prostho-dont. 1992, 1, 1, 37–41.
- [6] Atkinson J.C., Wu A.J.: Salivary gland dysfunction: causes, symptoms, treatment. J. Am. Dent. Assoc. 1994, 125, 4, 409–416.
- [7] Austin B., Priest F.G.: Modern Bacterial Taxonomy. Van Nostrand Reinhold, Wokingham 1986.
- [8] Baker D.G.: The radiobiological basis for tissue reactions in the oral cavity following therapeutic x-irradiation. Arch. Otolaryngol. 1982, 108, 21–24.
- [9] Balows A., Truper H.G., Dworkin M., Harder W., Schleifer K.H. (eds): The Prokaryotes. A hand-book on the biology of bacteria. 2nd edn. Springer-Verlag, New York 1991.
- [10] Barrett A.P.: Evaluation of nystatin in prevention and elimination of oropharyngeal *Candida* in immunosuppressed patients. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1984, 58, 2, 148–151.
- [11] Batura-Gabryel H., Brajer B., Kuźnar B., Młynarczyk W.: Czy aktywność hydrolityczna grzybów z rodzaju *Candida* wyizolowanych od chorych na przewlekłą obturacyjną chorobę płuc (POCHP) może zmieniać się z postępem choroby podstawowej. Post. Derm. Alerg. 2003, 20, 148–155.
- [12] Batura-Gabryel H., Brajer B., Kuźnar-Kamińska B.: Biotypy enzymatyczne grzybów z rodzaju *Candida albicans* wyizolowanych od chorych na przewlekłą obturacyjną chorobę płuc (POCHP). Mikol. Lek. 2003, 10, 243–248.
- [13] Batura-Gabryel H., Młynarczyk W.: Aktywność hydrolityczna grzybów z rodzaju *Candida* i występowanie grzybiczy jamy ustnej u chorych na raka płuc i przewlekłą obturacyjną chorobą płuc. Mikol. Lek. 2000, 7, 77–82.
- [14] Batura-Gabryel H., Młynarczyk W.: Aktywność proteolityczna i lipolityczna grzybów z rodzaju *Candida* wyizolowanych od chorych na przewlekłe choroby układu oddechowego. Mikol. Lek. 2000, 7, 139–143.
- [15] Batura-Gabryel H.: Wieloogniskowe występowanie grzybów z rodzaju *Candida* u chorych na POChP a ich aktywność hydrolityczna. Mikol. Lek. 2002, 9, 13–16.
- [16] Beighton D., Hardie J.M., Whitley R.A.: A scheme for the identification of viridans streptococci, J. Med. Microbiol., 1991, 35, 367–372.
- [17] Bernimoulin J.-P., Diedrich P., Diekwisch Th., Erpenstein H. et al.: Parodontologia (red. W. Ketterl). Urban & Partner, Wrocław 1995.

- [18] Białasiewicz D., Głowacka A., Kurnatowska A.: Aktywność wybranych enzymów hydrolitycznych u grzybów z różnych rodzin. *Mikol. Lek.* 1995, 2, 83–88.
- [19] Białasiewicz D., Kurnatowska A.J.: Aktywność wybranych enzymów hydrolitycznych u *Candida albicans* – szczepów wyizolowanych z ontocenozy jamy ustnej. *Mikol. Lek.* 1996, 3, 249–252.
- [20] Brajer B., Batura-Gabryel H., Kuźnar B., Młynarczyk W.: Aktywność lipolityczna i proteolityczna grzybów z rodzaju *Candida*, wyizolowanych z płwociny chorych na POChP. *Post. Dermat. Alerg.* 2002, XIX, 3, 184–188.
- [21] Budak A., Trojanowska D., Pamicka-Konduracka E., Zwolińska-Weisło M., Lauterbach R.: Ocena częstości występowania zakażeń grzybiczych u pacjentów grup ryzyka. *Mikol. Lek.* 1995, 2, 43–48.
- [22] Bunetel L., Bonnaure-Mallet M.: Oral pathoses caused by *Candida albicans* during chemotherapy. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 1996, 82, 161–165.
- [23] Burlage F.R., Coppes R.P., Meertens H., Stokman M.A., Vissink A.: Parotid and submandibular/sublingual salivary flow during high dose radiotherapy. *Radiother. Oncol.* 2001, 61, 271–274.
- [24] Carl W., Emrich L.S.: Management of oral mucositis during local radiation and systemic chemotherapy: a study of 98 patients. *J. Prosthet. Dent.* 1991, 66, 3, 361–369.
- [25] Carl W.: Oral complications in cancer patients. *Am. Fam. Physician* 1983, 27, 2, 161–170.
- [26] Carlson C., Carlson C.R., Miller C.S., Reid K.I.: Psychosocial profiles of patients with burning mouth syndrome. *J. Orofac. Pain*, 2000, 14, 1, 59–64.
- [27] Chao K.S., Deasy J.O., Markman J., Haynie J., Perez C.A., Purdy J.A., Low D.A.: A prospective study of salivary function sparing in patients with head-and-neck cancers receiving intensity-modulated or three-dimensional radiation therapy: initial results. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2001, 49, 4, 907–916.
- [28] Cibirka R.M., Nelson S.K., Lefebvre C.A.: Burning mouth syndrome: a review of etiologies. *J. Prosthet. Dent.* 1997, 78, 1, 93–97.
- [29] Ciuruś M.J.: Zapobieganie zakażeniom w gabinetach zabiegowych a jakość usług medycznych. Wydawnictwo Adi, Łódź 1999.
- [30] Cole A.S., Eastoe J.E.: *Biochemistry and Oral Biology*. Wright, London 1988.
- [31] Collins J.J., Geake J., Grier H.E., Thaler H.T., Weinstein H.J., Twum-Danso N.Y., Berde C.B.: Patient-controlled analgesia for mucositis pain in children: a three-period crossover study comparing morphine and hydromorphone. *J. Pediatr.* 1996, 129, 722–728.
- [32] Cooper J.S., Fu K., Marks J., Silverman S.: Late effects of radiation therapy in the head and neck region. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1995, 30, 1144–1164.
- [33] Crockett D.N., O'Grady J.F., Reade P.C.: *Candida* species and *Candida albicans* morphotypes in erythematous candidiasis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1992, 73, 5, 559–563.
- [34] Cybulski Z., Krzemińska-Jaśkowiak E., Wiktorowicz K.: *Candida albicans* – nowe aspekty immunogenności i chorobotwórczości. *Post. Mikrobiol.* 1994, 33, 247–257.
- [35] Dąbkowska M., Swoboda-Kopeć E., Kawecki D., Obuch-Woszczatyński P., Stelmach E., Łuczak M.: Badanie aktywności enzymatycznej szczepów *Candida* izolowanych z materiałów klinicznych chorych z układową kandydozą. *Mikol. Lek.* 2005, 12, 2, 123–126.
- [36] Dąbkowska M.: Badanie aktywności enzymatycznej szczepów *Candida albicans* izolowanych z materiałów klinicznych biorcy nerki. *Mikol. Lek.* 2007, 14, 1, 73–74.
- [37] De Jong M.H., Van Der Hoeven J.S.: The growth of oral bacteria on saliva. *J. Dent. Res.* 1987, 66, 498–505.
- [38] Delwiche E.A., Pestka J.J., Tortorello M.L.: The Veillonellae: Gram-negative cocci with a unique physiology. *Ann. Rev. Microbiol.* 1985, 39, 175–193.
- [39] Dens F., Boogaerts M., Boute P., Declerck D., Demuyne H., Vinckier F., Belgium B.: Caries related salivary microorganisms and salivary flow rate in bone marrow recipients. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 1996, 81, 1, 38–43.
- [40] Downes J., Hooper S.J., Wilson M.J., Wade W.G.: *Prevotella histicola* sp. nov., isolated from the human oral cavity. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2008, 58, 1788–1791.

- [41] Dreizen S.: Oral complications of cancer therapies. Description and incidence of oral complications. NCI Monogr. 1990, 9, 11–15.
- [42] Durussel C., Nougier L., Bossy G., Parreno D., Zambardi G., Bille J.: Evaluation of the new ATB FUNGUS 2 (bioMerieux) System in comparison with Reference Methods (NCCLS M27-A2, EUCAST) for the *In Vitro* Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Poster 302, Congres de la RICAI, Paris 2003.
- [43] Eisbruch A., Ship J.A., Dawson L.A., Kim H.M., Bradford C.R., Terrell J.E., Chepeha D.B., Teknos T.N., Hogikyan N.D., Anzai Y., Marsh L.H., Ten Haken R.K., Wolf G.T.: Salivar gland sparing and improved target irradiation by conformal and intensity modulated irradiation of head and neck cancer. World J. Surg. 2003, 27, 7, 832–837.
- [44] Epstein J.B., Hancock P.J., Nantel S.: Oral candidiasis in hematopoietic cell transplantation patients: an outcome-based analysis. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 2003, 96, 2, 154–163.
- [45] Epstein J.B., Schubert M.M.: Oral mucositis in myelo suppressive cancer therapy. Oral Surg. Oral Med. Oral Path. Oral Radiol. Endod. 1999, 88, 3, 273–276.
- [46] Epstein J.B., Schubert M.M.: Oropharyngeal mucositis in cancer therapy. Oncology 2003, 17, 1767–1779.
- [47] Epstein J.B., van der Meij E., McKenzie M., Wong F., Lepawsky M., Stevenson-Moore P.: Post-radiation osteonecrosis of the mandible: a long-term follow-up study. Oral Surg. Oral Med. Oral Path. Oral Radiol. Endod. 1997, 83, 657–662.
- [48] FDI Policy Statement, Revised version GAB, Oral cancer. 26 Sept 2008.
- [49] Fotos P., Vincent S.D., Hellstein J.W.: Oral candidosis. Clinical, historical, and therapeutic features of 100 cases. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1992, 74, 1, 41–49.
- [50] Fox P.C.: Differentiation of dry mouth etiology. Adv. Dent. Res. 1996, 10, 1, 13–16.
- [51] Frandsen E.V.G., Pedrazzoli V., Kilian M.: Ecology of viridans streptococci in the oral cavity and pharynx. Oral Microbiol. Immunol. 1991, 6, 129–133.
- [52] Gliński B., Ząbek M., Urbański J.: Podstawowe zasady postępowania z chorymi na raka płaskonabłonkowego głowy i szyi. Współcz. Onkol. 2006, 6, 263–267.
- [53] Gołąb-Lipińska M.: Analiza zbieżności cech szczepów z ontocenozy pochwy i innych wyodrębnionych narządów ustroju kobiety. Rozprawa doktorska, AM, Łódź 1990.
- [54] Grushka M., Epstein J.B., Gorsky M.: Burning mouth syndrome. Am. Fam. Physician 2002, 15, 65, 4, 615–620.
- [55] Grzegorzczak-Jaźwińska A., Górka R.: Stan błony śluzowej jamy ustnej u pacjentów po przeszczepie szpiku. Przegląd piśmiennictwa. Stomatol. Współcz. 2002, 9, 4, 38.
- [56] Guchelaar H.J., Vermes A., Meerwaldt J.H.: Radiation-induced xerostomia: pathophysiology, clinical course and supportive treatment. Support Care Cancer 1997, 5, 281–288.
- [57] Guide to epidemiology and diagnosis of oral mucosal diseases and conditions. WHO, Munksgaard Copenhagen 1980.
- [58] Handley P.S.: Structure, composition and functions of surface structures on oral bacteria. Bio-fouling, 1990, 2, 239–264.
- [59] Hardie J.M.: Application of chemotaxonomic techniques to the taxonomy of anaerobic bacteria. Scand. J. Infect. Dis., Suppl., 1989, 62, 7–14.
- [60] Hashimoto Y., Tanioka H.: Vertebral osteomyelitis associated with disseminated Candidiasis in an oral cancer patient. J. Oral Maxillofac. Surg. 1991, 49, 8, 901–903.
- [61] Hatakeyama M.: *Helicobacter pylori* CagA – a potential bacterial oncoprotein that functionally mimics the mammalian Gab family of adaptor proteins. Microbes Infect. 2003, 5, 2, 143–150.
- [62] Haveman C.W.: Xerostomia management in the head and neck radiation patient. Tex. Dent. J. 2004, 121, 6, 483–497.
- [63] Heczko P.B.: Mikrobiologia lekarska – przewodnik. Wydawnictwo UJ, Kraków 1999.
- [64] Heimdahl A., Johnson G., Danielsson K.H., Lönnqvist B., Sundelin P., Ringden O.: Oral condition of patients with leukemia and severe aplastic anemia. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1985, 60, 5, 498–504.

- [65] Heimdahl A.: Prevention and management of oral infections in cancer patients. *Support Care Cancer* 1999, 7, 224–228.
- [66] Hirnle Z.: Zarys radioterapii onkologicznej. AM, Wrocław 1980.
- [67] Holmes S.: The oral complications of specific anticancer therapy. *Int. J. Nurs. Stud.* 1991, 28, 4, 343–360.
- [68] <http://www.bbc.co.uk>.
- [69] Jankowska K.: Próchnica popromienna. *Wrocł. Stomatol.* 1992, 235.
- [70] Jaśkowski J., Terlecki J.: Popromienne skutki somatyczne. *Wiad. Lek.* 1988, XLI, 18, 1253.
- [71] Jobbins J., Bagg J., Finlay I.G., Addy M., Newcombe R.G.: Oral and dental disease terminally ill cancer patients. *BMJ* 1992, 304, 6842, 1612.
- [72] Johnson J.T., Ferreti G.A., Nethery W.J., Valdez I.H., Fox P.C., Ng D., Muscoplat C.C., Gallagher S.C.: Oral pilocarpine for post-irradiation xerostomie in patients with head and neck cancer. *N. Engl. J. Med.* 1993; 8, 5, 390–395.
- [73] Jones L.R., Toth B.B., Keene H.J.: Effects of total body irradiation on salivary gland function and caries-associated oral microflora in bone marrow transplant patients. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1992, 73, 6, 670–676.
- [74] Joyston-Bechal S., Hayes K., Davenport E.S., Hardie J.M.: Caries incidence, mutans streptococci and lactobacilli in irradiated patients during a 12-month preventive programme using chlorhexidine and fluoride. *Caries Res.* 1992, 26, 5, 384–390.
- [75] Kaczmarek U.: Suchość jamy ustnej – etiologia, częstość występowania i rozpoznanie – na podstawie piśmiennictwa. *Czas. Stomatol.* 2007, LX, 1, 20–31.
- [76] Kilian M., Schiott C.R.: Haemophili and related bacteria in the human oral cavity. *Arch. Oral Biol.* 1975, 20, 791–796.
- [77] Knychalska-Karwan Z.: Fizjologia i patologia błony śluzowej jamy ustnej. Czelej, Lublin 2002.
- [78] Knychalska-Karwan Z.: Morfologia i fizjologia błony śluzowej jamy ustnej. [W:] *Podstawy chorób przyzębia i błony śluzowej jamy ustnej*. Wydawnictwo UJ, Kraków 1998.
- [79] Knychalska-Karwan Z.: Zbiór wskaźników stomatologicznych i niektórych testów oraz klasyfikacji. Czelej, Lublin 2006.
- [80] Kołodyński J.: *Podstawy bakteriologii*. Wydawnictwo Uniwersytetu Wrocławskiego, Wrocław 1998.
- [81] Konturek P.C., Konturek S.J., Pierzchalski P., Bielański W., Duda A., Marlicz K., Starzyńska T., Hahn E.G.: Cancerogenesis in *Helicobacter pylori* infected stomach – role of growth factors, apoptosis and cyclooxygenases. *Med. Sci. Monit.* 2001, 7, 5, 1092–1107.
- [82] Konturek P.C., Konturek S.J.: Role of *Helicobacter pylori* infection in gastro-duodenal secretion and in pathogenesis of peptic ulcer and gastritis. *J. Physiol Pharmacol.* 1994, 45, 3, 333–350.
- [83] Köstler W.J., Hejna M., Wenzel C., Zielinski C.: Oral mucositis complicating chemotherapy and/or radiotherapy: options for prevention and treatment. *CA Cancer. J. Clin.* 2001, 51, 290–315.
- [84] Krajewska-Kułak E.: *Zarys mikologii dla pielęgniarek*. Czelej, Lublin 2005.
- [85] Krajewska-Kułak E., Łukaszuk C., Niczyporuk W., Trybuła J., Szczurzewski M.: Enzymatic biotypes of the yeast-like fungi strains and their susceptibilities to antimycotics isolated from ontocenosis of the urogenital system. *Mikol. Lek.* 2002, 9, 67–74.
- [86] Krajewska-Kułak E., Niczyporuk W., Karczewski J., Złotkowski W.: Ocena aktywności wybranych enzymów hydrolitycznych u grzybów z gatunku *Candida* przy użyciu testu API ZYM. *Mikol. Lek.* 1997, 3, 147–152.
- [87] Krajewska-Kułak E., Niczyporuk W., Karczewski J.: Ocena aktywności hydrolitycznych szczepów grzybów drożdżopodobnych izolowanych z ontocenozy pochwy. *Mikol. Lek.* 1998, 5, 23–30.
- [88] Krajewska-Kułak E., Niczyporuk W., Łukaszuk C., Sobaniec H., Wojtukiewicz M., Krawczuk-Rybak M., Szczurzewski M.: Biotypy enzymatyczne a wrażliwość na leki przeciwgrzybicze szczepów *Candida albicans* izolowanych z ontocenozy jamy ustnej pacjentów ze schorzeniami nowotworowymi. *Mikol. Lek.* 2000, 7, 1, 27–34.
- [89] Kraseman C.: *Pobieranie i transportowanie materiałów do badań mikrobiologicznych*. Bayer AG – PTZS – Medycyna Praktyczna 1995.

- [90] Kurnatowska A.: Biologia i ekologia grzybów chorobotwórczych. Zarys mikologii lekarskiej. Volumed, Wrocław 1998, 21–35.
- [91] Kurnatowska A.: Grzyby drożdżopodobne [W:] Zarys mikologii lekarskiej, red. E. Baran. Volumed, Wrocław 1998.
- [92] Kurnatowska A.: Występowanie grzybów w ontocenoze jamy ustnej a zmiany błony śluzowej. Mikol. Lek. 2003, 10, 4, 295–298.
- [93] Kurnatowska A.J., Kurnatowski P.: Biotypes of fungi isolated from patients with oral cavity diseases. Mikol. Lek. 1998, 5, 213–217.
- [94] Kurnatowski M., Wąsowska-Królikowska K., Kurnatowska A.: *Candida albicans* Berthout, 1923: hydrolases activity and own method of digestive tract strains biotyping. Wiad. Parazytol. 2002, 48, 441–445.
- [95] Kwaśniewska J., Loga G., Woźniacka A., Dziańkowska-Bartkowiak B., Sysa-Jędrzejowska A.: Grzyby u pacjentów z chorobami pęcherzowymi i tkanki łącznej – aktywność wybranych hydrolaz w szczepach *Candida albicans*. Mikol. Lek. 2001, 8, 85–90.
- [96] Lacatusu S., Francu L., Francu D.: Clinical and therapeutical aspects of rampant caries in cervicofacial irradiated patients. Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi. 1996, 100, 3–4, 198–202.
- [97] Laskus-Perendyk A. i wsp.: Schorzenia błony śluzowej jamy ustnej związane z zaburzeniami ilościowymi i jakościowymi wydzielania śliny. Mag. Stomat. 1995, V, 2, 36–41.
- [98] Liu R.P., Fleming T.J., Toth B.B., Keene H.J.: Salivary flow rates in patients with head and neck cancer 0,5 to 25 years after radiotherapy. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1990, 70, 6, 724–729.
- [99] Lockhart S.R.: Natural defenses against *Candida* colonization breakdown in the oral cavities of the elderly. J. Dent. Res. 1999, 78, 857–868.
- [100] Loster B.W.: Współzależność infekcyjnych stanów chorobowych jamy ustnej i górnych odcinków przewodu pokarmowego u pacjentów użytkujących protezy zębowe. Rozprawa habilitacyjna. Wydawnictwo UJ, Kraków 2004.
- [101] Łukaszuk C., Krajewska-Kulaś E., Niczyporuk W., Theodosopoulou E., Hatzopulu A., Krawczuk-Rybak M., Wojtukiewicz M.: Variations of enzymatic activity and biotypes of the yeast like fungi strains isolated from cancer patients. Ann. Acad. Med. Bialostocens. 2005, 50, suppl. 1, 16–19.
- [102] Lynch J.M., Poole N.J.: Microbial Ecology. A conceptual approach. Blackwell Scientific Publications, Oxford 1979.
- [103] Majewski S.W.: Biocenoza jamy ustnej w aspekcie stosowania protez zębowych. [W:] Podstawy protetyki w praktyce lekarskiej i technice dentystycznej. Wydawnictwo Stomatologiczne SZS-W, Kraków 2000.
- [104] Malinowski E., Lassa H., Kuźma K.: Enzymatic activity of yeast species isolated from bovine mastitis. Bull. Vet. Inst. Puławy 2001, 45, 289–295.
- [105] Maresky L.S., van der Bijl P., Gird I.: Burning mouth syndrome. Evaluation of multiple variables among 85 patients. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1993, 75, 3, 303–307.
- [106] Markitziu A., Zafiropoulos G., Tsalikis L., Cohen L.: Gingival health and salivary function in head and neck – irradiated patients. A five-year follow-up. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1992, 73, 4, 427–433.
- [107] Marsh P.D., Keevil C.W.: The metabolism of oral bacteria in health and disease, in Microbial Metabolism in the Digestive Tract (ed. MJ Hill). CRC Press, Boca Raton 1986, 155–181.
- [108] Marsh P.D., Martin M.: Mikrobiologia jamy ustnej. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1994.
- [109] Marshall B.: *Helicobacter pylori*: 20 years on. Clin. Med. 2002, 2, 2, 147–152.
- [110] Mayrand D., Holt S.C.: Biology of asaccharolytic black-pigmented *Bacteroides* species. Microbiol. Rev. 1988, 52, 134–152.
- [111] McIlroy P.: Radiation mucositis: a new approach to prevention and treatment. Eur. J. Cancer Care, 1996, 5, 153–158.

- [112] Milecki P.: Wybrane aspekty objawów ubocznych radioterapii nowotworów głowy i szyi. *Post. Chir. Głowy Szyi*, 2004, 1, 15–32.
- [113] Minakowski J., Bidziński A.: Suchość w jamie ustnej – przyczyny. *Stomat. Współcz.* 1994, 3, 230–231.
- [114] Miszczyk L.: Zbadanie przebiegu i nasilenia ostrego odczynu popromiennego błon śluzowych u chorych na raka regionu głowy i szyi w zależności od sposobu frakcjonowania i intensywności dawki promieniowania. Rozprawa habilitacyjna. Wydawnictwo Śląskiej Akademii Medycznej, Katowice 2001.
- [115] Monget D.: Mise au point d'une microméthode de détection et de mesure d'activités enzymatiques (API ZYM). Résultats obtenus dans différents domaines d'application. Thèse de Docteur-Ingénieur, Lyon 1978.
- [116] Morrish R.B. Jr, Chan E., Silverman S.J. Jr, Meyer J., Fu K.K., Greenspan D.: Osteonecrosis in patients irradiated for head and neck carcinoma. *Cancer*, 1981, 47, 8, 1980–1983.
- [117] Nagy K.N., Szóke I., Sonkodi I., Nagy E., Mari A., Szolnoky G., Newman H.N.: Inhibition of microflora associated with oral malignancy. *Oral Oncol.* 2000, 36, 1, 32–36.
- [118] Naylor G.D., Marino G.G., Shumway R.C.: Glossodynia after radiation therapy and chemotherapy. *Ear Nose Throat J.* 1989, 68, 10, 751–757.
- [119] Nederfors T.: Xerostomia and hyposalivation. *Adv. Dent. Res.* 2000, 14, 48–56.
- [120] Nowak-Malinowska H.: Wpływ dawek leczniczych promieniowania jonizującego stosowanych w zakresie twarzoczaszki i szyi na stan uzębienia i właściwości śliny. Rozprawa doktorska. AM, Wrocław 1986.
- [121] Obuch-Woszczatyński P., Osowiecki H.: Izolacja i identyfikacja mikroflory jamy ustnej. [W:] Wybrane zagadnienia z mikrobiologii jamy ustnej. Red. M. Łuczak i E. Swoboda-Kopeć. Czelej, Lublin 2004.
- [122] Obuch-Woszczatyński P., Osowiecki H.: Odczyny immunologiczne, metody molekularne oraz inne metody stosowane w diagnostyce mikrobiologicznej. [W:] Wybrane zagadnienia z mikrobiologii jamy ustnej. Czelej, Lublin 2004.
- [123] Parker M.T., Duerden B.I.: Topley & Wilsons Principles of Bacteriology virology and Immunity (vol. 2) Systematic Bacteriology. Edward Arnold, London 1990.
- [124] Percival R.S., Challacombe S.J., Marsh P.D.: Age-related microbiological changes in the salivary and plaque microflora of healthy adults. *J. Med. Microbiol.* 1991, 35, 5–11.
- [125] Petersen D.E., Cariello A.: Mucosal damage: a major risk for severe complications after cytotoxic therapy. *Semin. Oncol.* 2004, 31, 35–44.
- [126] Peterson D.E., D'Ambrosio J.A.: Diagnosis and management of acute and chronic oral complications of nonsurgical cancer therapies. *Dent. Clin. North Am.* 1992, 36, 4, 945–966.
- [127] Peterson D.E., Sonis T.S.: Oral complications of cancer chemotherapy: present status and future studies. *Cancer Treat. Rep.* 1982, 66, 6, 1251–1256.
- [128] Peterson D.E.: Research advances in oral mucositis. *Curr. Opin. Oncol.* 1999, 11, 4, 261–266
- [129] Petkowicz B., Skiba-Tatarska M., Wysokińska-Miszcuk J.: Kandydoza jamy ustnej. *Gerontol. Pol.* 2006, 14, 4, 160–164.
- [130] Pietruski J.K., Sacha P., Zaremba M., Gołębiewska M., Stokowska W.: Zakażenia grzybicze u pacjentów ze stomatopatią protetyczną. Cz. I. Ocena flory grzybiczej. *Prot. Stom.* 1997, XLVII, 4, 197–202.
- [131] Plomer-Niezgoda E., Baran E., Cisko M., Hryncewicz-Gwóźdź A., Walów B.: Badanie aktywności enzymów hydrolitycznych wybranych grzybów pleśniowych i drożdżaków przy użyciu testu API ZYM. *Mikol. Lek.* 1998, 5, 157–164.
- [132] Plomer-Niezgoda E., Baran E.: Ocena aktywności zewnątrzkomórkowych enzymów hydrolitycznych wybranych grzybów pleśniowych. *Mikol. Lek.* 1997, 4, 141–145.
- [133] Pytko-Polończyk J., Konturek S.J., Karczewska E., Bielański W., Kaczmarczyk-Stachowska A.: Oral cavity as permanent reservoir of *Helicobacter pylori* and potential source of reinfection. *J. Physiol. Pharmacol.* 1996, 41, 1, 121–129.

- [134] R Development Core Team: R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing Vienna, Austria 2008. <http://www.R-project.org>.
- [135] Ramirez-Amador V., Silverman S., Mayer P., Tyler M., Quivey J.: *Candida* colonization and oral candidiasis in patients undergoing oral and pharyngeal radiation therapy. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 1997, 84, 2, 149–153.
- [136] Rodwell V.W., Kennelly P.J.: Enzymy: regulacja aktywności. [W:] *Biochemia Harpera*. Red. R.K. Murray, D.K. Granner, V.W. Rodwell, P. Mayes. PZWL, Warszawa 2004, 143–158.
- [137] Rosebury T.: *Micro-organisms Indigenous to Man*. McGraw-Hill, New York 1962.
- [138] Roseff S.A., Sugar A.M.: Oral and esophageal candidiasis. [W:] *Candidiasis: pathogenesis, diagnosis and treatment*. Red. G.P. Bodey. Raven Press Ltd, New York 1993, 185–199.
- [139] Sakki T.K., Knuuttila M.L., Läärä E., Anttila S.S.: The association of yeasts and denture stomatitis with behavioral and biologic factors. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 1997, 84, 6, 624–629.
- [140] Samaranayake L.P.: *Podstawy mikrobiologii dla stomatologów*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2004.
- [141] Schlegel H.G.: *Mikrobiologia ogólna*. PWN, Warszawa 2005.
- [142] Schubert M.M., Williams B.E., Lloid M.E., Donaldson G., Chapko M.K.: Clinical assessment scale for the rating of oral mucosal changes associated with bone marrow transplantation. *Cancer*, 1992, 69, 10, 2469–2477.
- [143] Schwarz E., Chiu G.K., Leung W.K.: Oral health status of southern Chinese following head and neck irradiation therapy for nasopharyngeal carcinoma. *J. Dent.* 1999, 27, 1, 21–28.
- [144] Scully C., Epstein J., Sonis S.: Oral mucositis: a challenging complication of radiotherapy, chemotherapy, and radiochemotherapy. Part 2: diagnosis and management of mucositis. *Head Neck* 2004, 26, 1, 77–84.
- [145] Seto B.G., Kim M., Wolinsky L., Mito R.S., Champlin R.: Oral mucositis in patients undergoing bone marrow transplantation. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1985, 60, 5, 493–497.
- [146] Shannon I.L., Starcke E.N., Wescott W.B.: Effect of radiotherapy on whole saliva flow. *J. Dent. Res.* 1977, 56, 6, 693–698.
- [147] Ship J.A., Eisbruch A., D'Hondt E., Jones R.E.: Parotid sparing study in head and neck cancer patients receiving bilateral radiation therapy: one year results. *J. Dent. Res.* 1997, 76, 3, 807–813.
- [148] Ship J.A., Grushka M., Lipton J.A., Mott A.E., Sessle B.J., Dionne R.A.: Burning mouth syndrome: an update. *J. Am. Dent. Assoc.* 1995, 126, 842–853.
- [149] Skołyszewski J.: *Radioterapia nowotworów głowy i szyi*. Instytut Fizyki Jądrowej UJ, Kraków 1991.
- [150] Sonis S.T., Elting L.S., Keefe D., Peterson D.E., Schubert M., Hauer-Jensen M., Bekele B.N., Raber-Durlacher J., Donnelly J.P., Rubenstein E.B.: Mucositis Study Section of the Multinational Association for Supportive Care in Cancer; International Society for Oral Oncology: Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury. *Cancer* 2004, 100, 9, 1995–2025.
- [151] Sonis S.T., Oster G., Fuchs H., Bellm L., Bradford W.Z., Edelsberg J., Hayden V., Eilers J., Epstein J.B., LeVeque F.G., Miller C., Peterson D.E., Schubert M.M., Spijkervet F.K., Horowitz M.: Oral mucositis and the clinical and economic outcomes of hematopoietic stem-cell transplantation. *J. Clin. Oncol.* 2001, 19, 8, 2201–2205.
- [152] Sonis S.T.: The pathobiology of mucositis. *Nat. Rev. Cancer* 2004, 4, 277–284.
- [153] Sonis S.T.: Mucositis as a biological process a new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. *Oral Oncol.* 1998, 34, 39–43.
- [154] Spiechowicz E., Mierzwińska-Nastalska E.: *Grzybice jamy ustnej*. Med. Tour Press International 1998.
- [155] Spijkervet F.K.L., van Seane J.J.M., Panders A., Vermey A., Mehta D.M.: Mucositis prevention by selective elimination of oral flora in irradiated head and neck cancer patients. *J. Oral Pathol. Med.* 1990, 19, 486–489.

- [156] Sreebny L.M.: Saliva in health and disease: an appraisal and update. *Int. Dent. J.* 2000 50, 3, 140–161.
- [157] Stevenson-Moore P.: Oral complications of cancer therapies. Essential aspects of a pretreatment oral examination. *NCI Monogr.* 1990, 9, 33–36.
- [158] Stryjski A., Borysewicz-Lewicka M.: Stan jamy ustnej chorych objętych radioterapią z powodu nowotworów głowy i szyi. *Dent. Med. Probl.* 2007, 44, 2, 177–183.
- [159] Swoboda-Kopeć E. (red.): Aktualne zagadnienia z mikrobiologii jamy ustnej. Przejściowa i osiadła mikroflora bakteryjna człowieka ze szczególnym uwzględnieniem schorzeń jamy ustnej. Część I. Zagadnienia. Wydawnictwo Akademii Medycznej, Warszawa 2002.
- [160] Theilade E.: Factors controlling the microflora of the healthy mouth, in *Human Microbial Ecology* (eds. MJ Hill & PD Marsh). CRC Press, Boca Raton 1990, 1–56.
- [161] Tong H.C., Gao X.J., Dong X.Z.: Non-mutans Streptococci in patients receiving radiotherapy in the head and neck area. *Caries Res.* 2003, 37, 4, 261–266.
- [162] Torres-Rodriguez J.M., Morera-Lopez Y., Jimenez-Cabello T., Nougier L., Bossy G., Zambardi G.: ATB FUNGUS 2 for the *In Vitro* Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Comparative Study with Sensititre Yeast One and the Reference M27-A Method. Poster P-037, ECMM Congress, Wrocław 2004.
- [163] Trotti A.: Toxicity in head and neck cancer: a review of trends and issues. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2000, 47, 1, 1–12.
- [164] Wahlin Y.B.: Salivary secretion rate, yeast cells and oral candidiasis in patients with acute leukemia. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1991, 71, 6, 689–695.
- [165] Walker G.J., Jacques N.A.: Polysaccharides of oral streptococci, in *Sugar Transport and Metabolism in Gram-positive Bacteria* (eds. A Reizer & A Peterkofsky). Ellis Horwood, Chichester 1987, 39–68.
- [166] Washington J.A., Warren E., Karlson A.G.: Stability of Barium Sulfate turbidity standards (McFarland scale). *Appl. Microbiol.* 1972, 24, 6, 1013.
- [167] Watson W.L., Scarborough J.F.: Osteoradionecrosis in intraoral cancer. *Am. J. Roentgen Radium Ther. Nucl. Med.* 1938, 40, 524–534.
- [168] Williamson M.I., Samaranyake L.P., MacFarlane T.W.: Biotypes of oral *Candida albicans* and *Candida tropicalis* isolates. *J. Med. Vet. Mycol.* 1986, 24, 81–84.
- [169] Withers R.H.: Biologiczne podstawy radioterapii. Instytut Fizyki Jądrowej UJ, Kraków 1991
- [170] Wnukiewicz J., Komorski A., Łuczak K., Markowska-Krosno D. i in: *Popromienne uszkodzenie tkanek miękkich i kości twarzy*. Wrocławska Stomatologia 1992, 11.
- [171] Wojciechowska U., Didkowska J., Tarkowski W., Zatonski W. (red.). *Nowotwory złośliwe w Polsce w 2003 roku*. Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa 2005.
- [172] Wolff S.N., Fay J., Stevens D., Herzig R.H., Pohlman B., Bolwell B., Lynch J., Ericson S., Freytes C.O., LeMaistre F., Collins R., Pineiro L., Greer J., Stein R., Goodman S.A., Dummer S.: Fluconazole vs low-dose amphotericin B for prevention of fungal infections in patients undergoing bone marrow transplantation: a study of the North American Marrow Transplant Group. *Bone Marrow Transplant.* 2000, 25, 8, 853–859.
- [173] Wong J.K., Wood R.E., McLean M.: Conservative management of osteoradionecrosis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 1997, 84, 1, 16–21.
- [174] Zaremba L., Borowski J.: *Mikrobiologia lekarska*. PZWL, Warszawa 1997, rozdział 9, 757–777.

ISBN 978-83-233-2766-0



9 788323 327660